

Université Montpellier II
Sciences et techniques du Languedoc
Académie de Montpellier

Dossier présenté par
Jean Carlier

En vue d'obtenir le diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches

**« Génétique des populations et adaptation de champignons parasites de
plantes »**

Soutenu le 16 Juin 2010

Jury

**Claire Neema
Didier Andrivon
Pascal FREY
Tatiana Giraud
Yannis Michalakis
Xavier Mourichon**

**Professeur Agro Paris Tech
Directeur de recherche INRA
Chargé de recherche INRA
Directeur de recherche CNRS
Directeur de recherche CNRS
Directeur de recherche CIRAD**

**Rapporteur
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur**

Sommaire

Introduction	2
1. Parcours	5
1.1. Principales étapes	5
1.2. Encadrements et formations	5
1.2.1. Formations diplômantes	5
1.2.2. Encadrement de Post Docs	6
1.2.3. Enseignements et Formations de partenaires	7
1.3. Animation de la recherche	7
1.4. Synthèse des Publications	8
2. Activités de recherche de 1990 à 2009	9
2.1. Caractérisation du pathosystème <i>Mycosphaerella</i> spp. /bananier et développement de ressources génétiques	9
2.1.1. Collection d'isolats, taxonomie et diagnostic	9
2.1.2. Caractérisation du pouvoir pathogène et de la résistance du bananier	10
2.1.3. Ressources génétiques	10
2.2. Biologie des populations et importance des forces évolutives chez les champignons	10
2.2.1. Système de reproduction et recombinaison	11
2.2.2. Dispersion et Dérive génétique	12
2.3. Traits d'agressivité	18
2.4. Dynamique d'adaptation	19
3. Perspectives	20
3.1. Inférence de paramètres reliés aux forces évolutives chez <i>M. fijiensis</i>	21
3.1.1. Dérive génétique et migration	21
3.1.2. Sélection et évolution de traits d'agressivité	23
3.1.3. Sélection et évolution de la résistance aux fongicides	24
3.2. Contraintes sur les traits d'agressivité chez <i>M. fijiensis</i>	25
3.3. Dynamique d'adaptation de <i>M. fijiensis</i> dans les agrosystèmes	26
Références bibliographiques	28
Annexe 1 : Liste détaillée des publications	32
Annexe 2 : CV	35

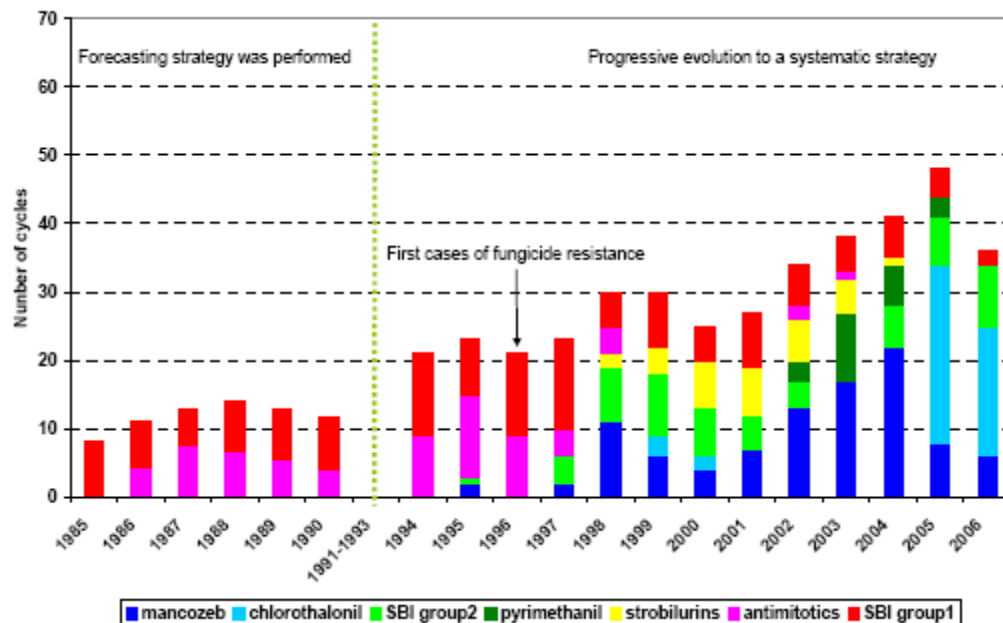


Figure 1. Historique (1985-2006) de l'utilisation de fongicide pour contrôler la maladie des raies noires du bananier (provoquée par *Mycosphaerella fijiensis*) dans une plantation de référence au Cameroun (d'après Luc de Lapeyre de Bellaire et al. 2009).



Figure 2. La maladie des raies noires du bananier provoquée par le champignon *Mycosphaerella fijiensis*. C'est une maladie qui entraîne un dessèchement des feuilles et ainsi une perte de rendement pouvant être totale (Photos : Eric Fourè, CIRAD).

Introduction

Les champignons parasites de plantes peuvent s'adapter très rapidement aux contraintes imposées par leur environnement abiotique ou biotique entraînant des émergences de nouvelles maladies et une perte d'efficacité des moyens de lutte utilisés pour contrôler les épidémies. Cette perte d'efficacité est due soit à l'apparition de résistances à des fongicides (exemple en Figure 1, de Lapeyre de Bellaire *et al.* 2009), soit à des contournements de résistances variétales. Pour évaluer les risques d'émergence et définir de nouvelles stratégies de lutttes durables, nous devons acquérir des connaissances sur l'adaptation des champignons phytopathogènes (McDonald & Linde 2002; Anderson *et al.* 2004; Pariaud *et al.* 2009). Mon activité scientifique s'inscrit depuis le début de ma carrière dans cette ligne de recherche.

L'adaptation des champignons dans les agrosystèmes dépend tout d'abord de l'interaction entre les différentes forces évolutives agissant sur les populations pathogènes : mutation, recombinaison, dérive génétique, migration et sélection. Elle dépend aussi des contraintes génétiques sur les traits impliqués: déterminisme génétique des traits et éventuelles corrélation entre traits. Enfin, elle dépend des caractéristiques des agrosystèmes et de leur changement. La compréhension de cette adaptation nécessite donc une approche expérimentale en génétique des populations et en génétique quantitative. Une approche théorique en biologie évolutive doit également être parallèlement menée, avec le développement de modèles intégrant les différents facteurs comme outils de compréhension et de prédiction.

L'étude de l'adaptation des champignons parasites de plante nécessite l'intégration des concepts de la pathologie végétale et de la biologie évolutive. Ces organismes présentent souvent une biologie particulière avec notamment : des populations à larges effectifs, des capacités de dispersion importantes, des évènements d'extinction et de colonisation fréquents, une reproduction sexuée et/ou asexuée, différents niveaux de ploïdie, une forte sélection due à l'interaction avec un ou des hôte(s) (McDonald & Linde 2002). L'étude de ces organismes apporte ainsi un éclairage nouveau sur la biologie évolutive. Cependant, les méthodes d'analyses et les modèles développés dans cette discipline ne prennent pas en compte le plus souvent les caractéristiques propres à ces organismes et doivent être adaptées.

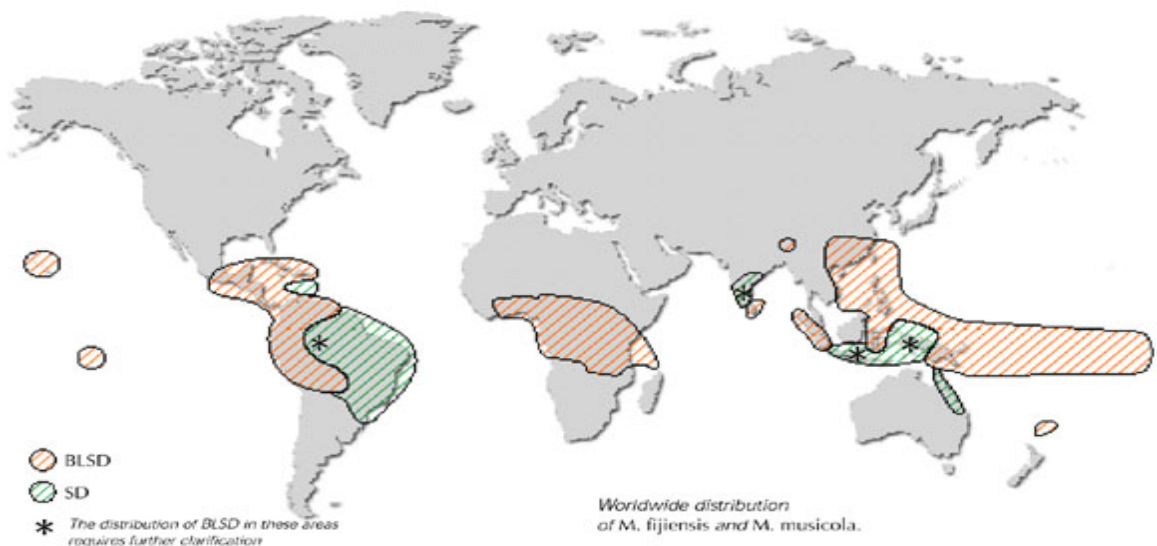


Figure 3. Distribution mondiale de *Mycosphaerella fijiensis* (maladie des raies noires, en rouge) et de *Mycosphaerella musicola* (maladie de Sigatoka, en vert) parasites du bananier (d'après Mourichon *et al.* 1997).

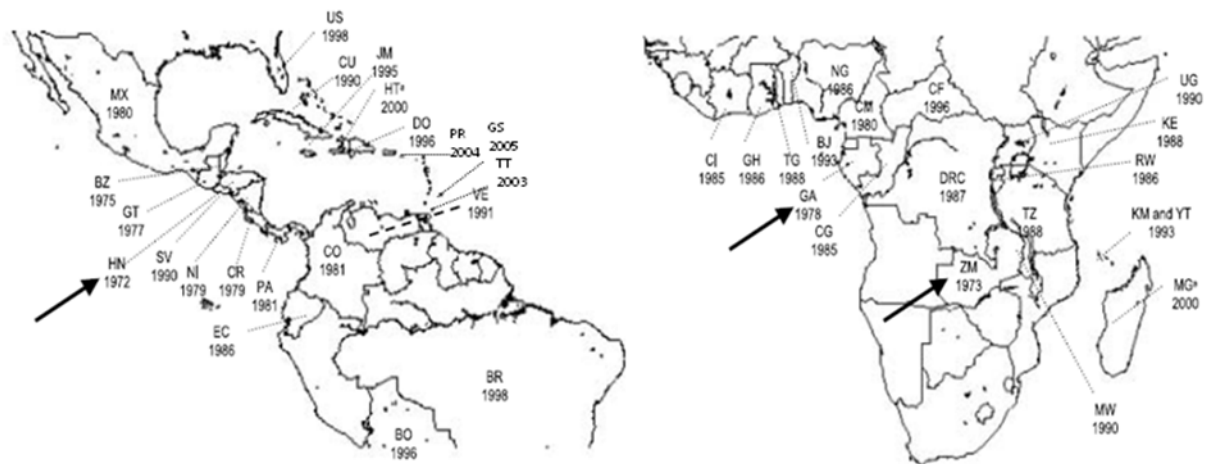


Figure 4. Chronologie des premières mentions de *Mycosphaerella fijiensis* dans les pays d'Amérique Latine des Caraïbes et d'Afrique (d'après Mourichon et Fullerton 1990; Jones 2000). Les flèches indiquent les pays où la maladie a été observée pour la première fois dans chaque région.

Mon modèle biologique d'étude principal est le champignon ascomycète *Mycosphaerella fijiensis* parasite du bananier. Il est responsable de la maladie foliaire nommée maladie des raies noires qui représente une contrainte agronomique majeure de la culture du bananier (Figure 2 ; (Jones 2000; Marin *et al.* 2003). C'est une maladie émergente qui s'est répandue dans toute la zone de production intertropicale à partir de l'Asie au cours des quarante dernières années (Figure 3 et 4, (Mourichon & Fullerton 1990). Ce parasite a progressivement remplacé *Mycosphaerella musicola*, espèce apparentée provoquant une maladie similaire du bananier, la maladie de Sigatoka. L'expansion mondiale de *M. musicola* est un peu plus ancienne (années 1920-30) et ce parasite était présent en 1960 dans toute la zone tropicale. *M. fijiensis* est encore en expansion dans certaines régions comme le Brésil et les Caraïbes. L'état se renferme de plus en plus autour des Antilles française où seule l'espèce *M. musicola* est présente à ce jour. Des résistances aux fongicides systémiques sont rapidement apparues en plantations industrielles (Figure 1, de Lapeyre de Bellaire *et al.* 2009), les rendant inutilisables. Actuellement, plus de 50 traitements fongicides de contacts par an sont épandus pour contrôler cette maladie. Ceci entraîne évidemment des conséquences importantes sur la santé humaine et sur l'environnement. De plus, la lutte chimique n'est pas accessible aux petits producteurs de nombreux pays. Pourtant cette production d'autoconsommation représente plus de 80% de la production mondiale de banane. L'utilisation de variétés résistantes issues de programmes d'amélioration génétique est une solution alternative utilisée depuis quelques années seulement dans certains pays.

M. fijiensis est aussi un modèle intéressant pour étudier l'adaptation des champignons phytopathogènes. En plus d'être un des exemples les plus marquants de pandémie récente dans le domaine végétale (Figure 3 et 4), le cycle infectieux de *M. fijiensis* et *M. musicola*, comprend des cycles de reproduction asexué et sexué imbriqués (Figure 5, (Agrios 2005). Il se disperse par trois modes (ascospores, conidies et matériel végétal) dont l'importance relative peut varier en fonction de l'échelle géographique considérée. Ce champignon présente donc une reproduction sexuée régulière et la démographie des populations établies est relativement stable (Jones 2000). Ces caractéristiques permettent une utilisation de méthodes de génétique des populations sans trop de biais.

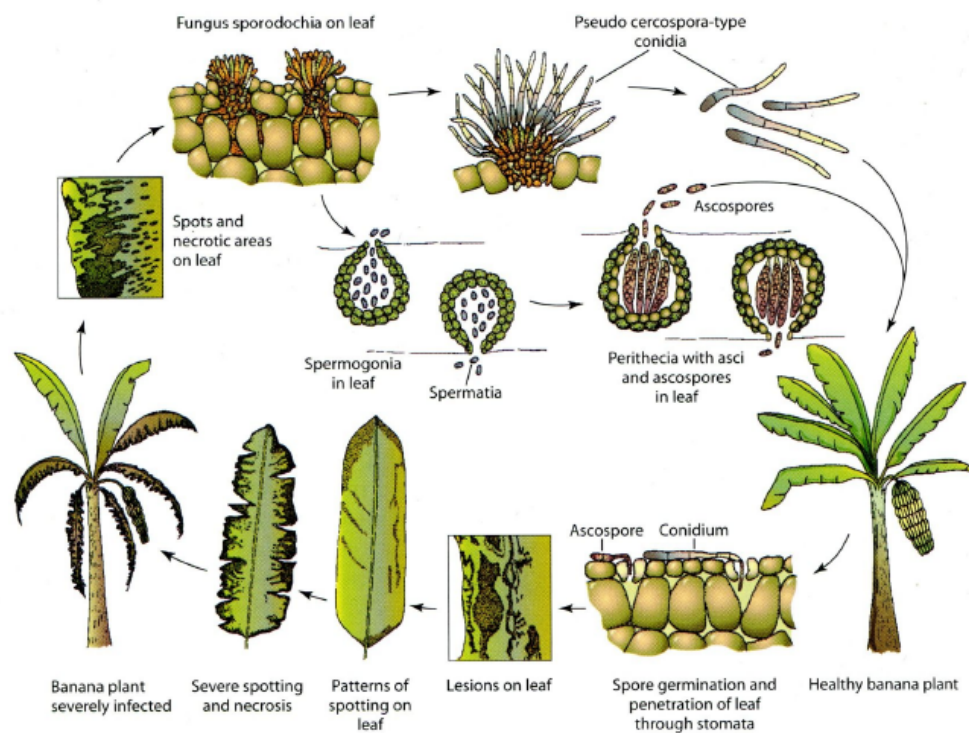


Figure 5. Cycle infectieux de *Mycosphaerella fijiensis* ou *M. musicola* avec la production de conidies (reproduction asexuée) et d'ascospores (reproduction sexuée). D'après Agrios (2005).

Après avoir résumé les étapes de mon parcours (la liste de mes publications et mon CV sont donnés en annexe), je présenterai dans un premier temps les travaux réalisés jusqu'à ce jour. J'ai principalement étudié la biologie des populations et l'importance des forces évolutives chez différents champignons et plus particulièrement chez *M. fijiensis*. Suite au renforcement de l'équipe par des théoriciens et modélisateurs en biologie évolutive, des études théoriques sur les traits impliqués dans l'agressivité et sur la dynamique d'adaptation des champignons ont été plus récemment initiées. Dans un deuxième temps, je présenterai les perspectives que je souhaite développer dans les années à venir

1. Parcours

1.1. Principales étapes

DEA de phytopathologie (1990) :

Sujet de stage : Etude du polymorphisme de fragments de restriction (RFLP) chez les *Mycosphaerella* spp. pathogènes des bananiers et plantains.

Réalisé au CIRAD sous la direction de Xavier Mourichon.

Thèse de doctorat en science (1990-1994) :

Sujet : Structure des populations de *Mycosphaerella fijiensis* responsable de la maladie des raies noires du bananier.

Réalisée au CIRAD sous la co-direction de Xavier Mourichon et Michel Dron.

Chercheur au CIRAD (1994-) :

Thème de recherche : Génétique des populations et adaptation de champignons parasites de plantes

1.2. Encadrements et formations

1.2.1. Formations diplômantes

Encadrements de stages de Masters:

Morel, C. (1995). Amélioration des techniques de production conidienne, in vitro, de *paracercospora fijiensis*, agent responsable de la maladie des raies noires des bananiers. **Licence** de physiologie végétale appliquée, Université Montpellier II.

Rakotonantoandro, A. (1997). Développement d'une technique de PCR-RFLP chez *Mycosphaerella fijiensis*. **DESS** Biotechnologies des champignons, Université Bordeaux II.

Cohen, S. (1998). Analyse génétique de la structure des populations de *Mycosphaerella fijiensis* aux Philippines et au Cameroun. **DEA** Génétique, adaptation et productions végétales, Université de Rennes I.

Gaillard, S. (2000). Caractérisation du complexe d'espèces fongiques *Mycosphaerella* spp. associé aux bananiers. **Licence** de physiologie végétale appliquée, Université de Montpellier II.

Dussart, J. F. (2001). Développement d'un outil de diagnostic moléculaire des *Mycosphaerella* spp champignons pathogènes du bananier. **DESS** Amélioration et Elaboration de la production Végétale, Université B. Pascal, Clermont-Ferrand.

Duchemin, M. (2002). Développement de marqueurs moléculaires de type microsatellites pour le diagnostic et l'étude des populations de *Mycosphaerella*, pathogènes du bananier. **DESS** Biotechnologies des champignons, Université Bordeaux II.

Coste, D. (2003). Isolement par la distance chez *Mycosphaerella fijiensis*, champignon responsable de la maladie des raies noires du bananier. **DEA** Phytogénétiques et interactions biologiques, Ecole nationale supérieure agronomique, Montpellier.

Schmaltz, B. (2004). Etude à l'échelle locale, aux Antilles et au Cameroun, de la structure génétique des populations de *Mycosphaerella musicola*, agent de la maladie de Sigatoka des bananiers. **DEA** Environnement tropical et Valorisation de la biodiversité, Université des Antilles et de la Guyane.

Chassaing, D. (2004). Développement de marqueurs microsatellites chez les champignons du genre *Mycosphaerella*, parasites du bananier. Utilisation pour l'étude de la stratégie reproductive. **Licence** de physiologie végétale appliquée, Université de Montpellier II.

Rieux, A. (2006). Estimation des flux de gènes chez le champignon phytopathogène *Mycosphaerella fijiensis* à une échelle locale en fonction du paysage. **Master 2** Ecologie, Biodiversité, Evolution ; Université Montpellier II.

Cogneau-Perineau, S. (2007). Effets du paysage sur les flux de gènes d'un champignon phytopathogène de bananiers *Mycosphaerella fijiensis* au Cameroun. **Master 2** Biologie, Evolution et Contrôle des populations, Université François Rabelais Tours.

Co-encadrements de thèses :

Inscrits en France

Adrien Rieux (2008-). Université de Montpellier II. Flux de gènes et évolution des résistances aux fongicides chez le champignon parasite bananier *Mycosphaerella fijiensis*. Bourse CIFRE-Bayer. Thèse démarrée en mai 2008.
Directeur de thèse, co-encadrement avec Virginie Ravigné et Luc de Lapeyre de Bellaire.

Stéphanie Robert (2008-). Université de Montpellier II. Routes d'expansion mondiale du champignon phytopathogène *Mycosphaerella fijiensis*. Conséquences sur la variabilité des traits liés à l'agressivité et le potentiel adaptatif. Bourse CIRAD-Régions LR. Thèse démarrée en novembre 2008.
Directeur de thèse, co-encadrement avec Virginie Ravigné et Catherine Abadie.

Gonzalo Galileo Rivas-Platero (soutenue en 2003). Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier. Effets de fondation et différenciation génétique aux échelles continentale et locale chez *Mycosphaerella fijiensis*, champignon responsable de la maladie des raies noires du bananier. Co-encadrement avec Xavier Mourichon (directeur de thèse).

Inscrits à l'étranger :

Helen Hayden (Soutenue en 2001). The university of Queensland, Australie. Population genetic studies of *Mycosphaerella* species infecting banana. Co-encadrement avec Elisabeth Aitken (directeur de thèse).

Abdelbasset El Hadrami (Soutenue en 2000). Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux, Belgique. Caractérisation de la résistance partielle des bananiers à la maladie des raies noires et évaluation de la variabilité de l'agressivité de l'agent causal *Mycosphaerella fijiensis*. Co-encadrement avec Xavier Mourichon et Philippe Lepoivre (directeur de thèse).

1.2.2. Encadrement de post docs

Helen Hayden. Population and Pathogenicity Studies of the Black Sigatoka Fungus, *Mycosphaerella fijiensis* (Horticultural Research and Development Corporation of Australia, Juillet 1998- Juin 2000).

Fabien Halkett. Génétique des populations et évolution de champignons phytopathogènes (CIRAD, Octobre 2005- Mars 2006).

Eric Bazin. Etude par simulations des déterminants de l'adaptation chez les espèces envahissantes (CIRAD-ANR, mai 2008- Septembre 2009). Co-encadrement avec Virginie Ravigné.

Benoît Barrès. Génétique des populations du champignon *Microcyclus ulei* parasite de l'hévéa (CIRAD-Michelin, Janvier 2008-Décembre 2009). Co-encadrement avec Virginie Ravigné.

1. 2.3. Enseignements et Formations de partenaires

- Un à deux courts par an en Master 1 et 2 (ENSAM, Agro Paris Tech, Université Orsay et Montpellier II)
- Formation internationale sur le diagnostic des maladies foliaires du bananier. Co-organisateur avec BIOVERSITY (Montpellier). Kuala Lumpur, Malaisie, 17-23 juin 2001. Au total 23 personnes ont participé à cette formation provenant des zones Asie-Pacifique, Amérique Latine-Caraïbes et Afrique
- Formation du personnel des services des protections des plantes de la Réunion, des Antilles et de Guyane sur le diagnostic de la maladie des raies noires (6 participants). Montpellier, France, (18-22-février 2008).

1.3. Animation de la recherche

Animation d'équipes :

- Animateur de l'équipe '*Mycosphaerella* spp du bananier' (1997- 2004). Coordination des travaux selon trois axes principaux : (i) Taxonomie, Phylogénie et Diagnostic des *Mycosphaerella* spp du bananier, (ii) Caractérisation de la résistance partielle du bananier à ces maladies, (iii) dynamique et évolution des populations pathogènes.
- Responsable de l'équipe de l'UMR BGPI 'biologie évolutive des champignons phytopathogènes' depuis 2004. Animation scientifique, gestion matérielle, financière et humaine de l'équipe.

Coordination de projets :

- Co-coordonateur de l'ATP (action thématique programmée) CIRAD 'Effet de la résistance du peuplement hôte sur la dynamique et la structure des populations d'agents phytopathogènes' (1999-2001).
- Coordinateur du projet Fond commun INRA-CIRAD 'Modélisation des épidémies de champignons responsables de maladies foliaires de plantes' (2001-2002).
- Coordinateur du projet ANR Emerfundis 'Comprendre les émergences de maladies fongiques de plantes : vers une estimation des risques liés aux changements globaux' (2008-2010). En collaboration avec 7 autres équipes en France de l'Inra, du CNRS et d'universités.

Animation de réseaux :

- Animateur du groupe de travail sur les maladies foliaires du bananier du réseau international Promusa (Global Programme for Musa improvement) de 1997 à 2003.

- Membre fondateur du '*Mycosphaerella genomic consortium*' en 2003.
- Membre fondateur de l '*International Pesticide Reduction Program for Banana*' en 2004.

Co-organisation de congrès et d'atelier

- Atelier "Gestion des risques dûs à la maladie des raies noires des bananiers dans la zone Caraïbes". Guadeloupe, 2-8 Octobre 2006 (plus 20 participants des Caraïbes).
- Rencontres de la société Française de Phytopathologie à Aussois en 2006 et 2008.
- '7th International *Mycosphaerella* and *Stagonospora* Symposium' à Ascona (Suisse) en Août 2008.
- Atelier sur le thème des flux de gènes dans le cadre du projet ANR Emerfundis. 13-15 mai 2009 (plus de 30 participants).

1.4. Synthèse des Publications (liste détaillée en annexe 1)

- 17 articles dans des revues internationales à comité de lecture (voir tableau récapitulatif ci-dessous).
- 6 articles dans des revues sans comité de lecture.
- 5 communications avec actes dans un congrès international.
- 7 ouvrages scientifiques (ou chapitres de ces ouvrages).

Journal	Facteur d'impact	Nombre d'articles
<i>Molecular Ecology</i>	5.325	2
<i>Fungal Genetics and Biology</i>	3.005	3
<i>Current genetics</i>	2.323	1
<i>Plant pathology</i>	2.152	4
<i>Phytopathology</i>	2.192	4
<i>Molecular Ecology Notes/Resources</i>	1.605	2
<i>Persoonia</i>	1.364	1
Total		17

2. Activités de recherche de 1990 à 2009

2.1. Caractérisation du pathosystème *Mycosphaerella* spp. /bananier et développement de ressources génétiques

Des travaux ont été menés pour caractériser le principale modèle biologique d'étude et pour développer les ressources nécessaires pour analyser les populations pathogènes.

2. 1. 1 Collection d'isolats, taxonomie et diagnostic.

Les études de population se sont faites à partir d'une collection qui compte aujourd'hui plus de 5500 isolats de différentes espèces de *Mycosphaerella* parasites du bananier (dont 4500 isolats de *M. fijiensis* et 700 de *M. musicola*) provenant de différentes régions du monde. Cette collection a été constituée au cours du temps par des collectes d'échantillons foliaires de bananier. Après isolement, l'appartenance à l'espèce *M. fijiensis* ou *M. musicola* était déterminée classiquement par observation *in vitro* de la morphologie des anamorphes (reproduction asexuée), respectivement *Paracercospora fijiensis* et *Pseudocercospora musicola* ([Zapater et al. 2008a](#)). Lors de la constitution de la collection, nous avons observé sur des échantillons provenant d'une certaine partie du Sud est asiatique (autour de l'Inde) une morphologie nouvelle du stade asexué. Nous avons ensuite confirmé, par séquençage des régions intergéniques (ITS) de l'ADN ribosomique (ADNr), que les isolats issus de ces échantillons appartenaient à une autre espèce apparentée et que cette espèce était parasite du bananier par inoculation en conditions contrôlées ([Carlier et al. 2000](#)). Cette espèce a été nommée *Mycosphaerella eumusae* (anamorphe *Pseudocercospora eumusae*) provoquant l'ELSD (eumusae leaf spot disease). La découverte de cette espèce nous a ainsi amené à considérer l'existence d'un complexe d'espèces parasites provoquant des maladies similaires sur le bananier ([Crous et al. 2002](#)). Nous avons donc réalisé des études de taxonomie et de phylogénie pour caractériser plus précisément ce complexe ([Crous et al. 2002](#), [Arzanlou et al. 2008](#)) et développer des méthodes de diagnostic classique (basées sur la morphologie, [Carlier et al. 2003](#), [Zapater et al. 2008a](#)) ou moléculaires (par PCR classique et quantitative ([Arzanlou et al. 2007](#)) pour identifier les différentes espèces parasites. Cet investissement nous a ensuite permis de former des partenaires et de transférer des méthodes de diagnostic en zone de production. Nous avons ainsi accompagné la mise en place d'un plan de surveillance pour tenter d'éviter l'introduction de *M. fijiensis* dans les Antilles françaises.

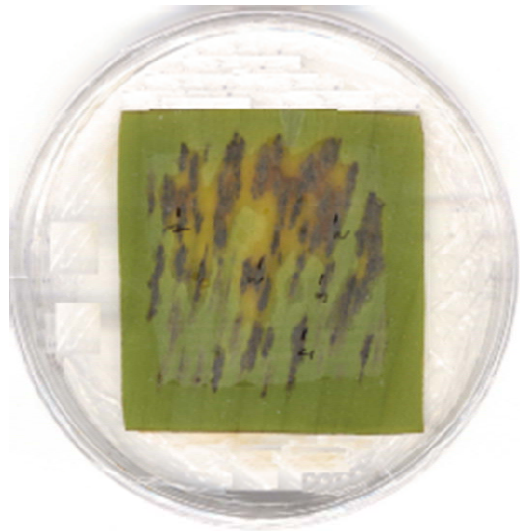


Figure 6. Inoculation de *Mycosphaerella fijiensis* sur plante entière (à gauche) ou fragment de feuille (à droite) de bananier.

2.1.2. Caractérisation du pouvoir pathogène et de la résistance du bananier

Pour cela, nous avons développé des méthodes d'inoculation *in vitro*, sur fragment de feuille maintenus en survie, et sur plante entière en serre (Figure 6 ; [Abadie et al. 2005](#), [Abadie et al. 2008](#)). L'utilisation de ces méthodes a permis de mettre en évidence l'existence de différentes composantes de résistance partielle agissant sur différents traits du champignon (thèse d'Abdel Elhadrami, Université de Gembloux, Belgique ; [Abadie et al. 2003](#)) et la caractérisation de nouveaux hybrides issus du programme d'amélioration du CIRAD ([Abadie et al. 2009](#)). Ces travaux comprennent le suivi épidémiologique de parcelles constituées par des bananiers partiellement résistants qui montrent l'efficacité dans le contrôle des épidémies de certaines composantes de résistance et de nouveaux hybrides.

2.1.3. Ressources génétiques

Différents types de marqueurs moléculaires ont été développés en fonction des évolutions techniques avec des marqueurs : RFLP pour les espèces *M. fijiensis* ([Carlier et al. 1994](#)) et *M. musicola* ([Hayden et al. 2003](#)), PCR-RFLP pour l'espèce *M. fijiensis* ([Zapater et al. 2004](#)), (iii) microsatellites pour les trois espèces *M. fijiensis*, *M. musicola* et *M. eumusae* ([Zapater et al. 2008b](#)). Ces derniers proviennent de la construction de banque enrichie et les résultats de l'analyse de ces banques ont été intégrés dans une revue de synthèse sur le développement de marqueurs microsatellites chez les champignons ([Dutech et al. 2007](#)).

Dans le cadre du consortium international nommé 'Mycosphaerella genomic consortium' nous avons produit les ressources pour le séquençage de 50 000 EST et du génome complet de *M. fijiensis* (Collaboration avec G. Kéma, PRI, Pays-Bas; et S. Goodwin, U. Purdue, USA). De plus, nous avons construit deux cartes génétiques ([Manzo-Sanchez et al. 2008](#)) dont une à haute densité (incluant 100 marqueurs microsatellites de notre équipe, non publiée) qui seront utiles dans un premier temps pour assembler le génome de *M. fijiensis*.

2.2. Biologie des populations et importance des forces évolutives chez les champignons

Comme pour les autres organismes, le développement des marqueurs moléculaires a entraîné une augmentation importante du nombre d'étude de populations chez les champignons parasites de plantes lors des 20 dernières années (McDonald & Linde 2002; Giraud et al. 2008). La biologie des champignons étant particulière avec notamment des

systèmes de reproduction variés, des capacités de dispersion et des effectifs potentiellement importants, les études réalisées à ce jour ont souvent abordé ces aspects. Ceux-ci sont reliés aux forces évolutives que sont la recombinaison, la migration et la dérive génétique. Nous avons conduit des telles études dans notre équipe avec différents modèles biologiques.

2.2.1 Système de reproduction et recombinaison

Le système de reproduction était peu ou pas connu chez certaines espèces que nous avons étudiées. Or le système de reproduction peut avoir un impact important sur les possibilités d'adaptation des champignons avec l'existence ou non de recombinaisons génétiques. Au travers d'études de populations, nous avons mis en évidence des systèmes très différents allant de la panmixie à l'autofécondation et en passant par la clonalité.

Panmixie chez *M. fijiensis*, *M. musicola* et *Microcyclus ulei*

Chez les espèces *M. fijiensis* et *M. musicola* les reproductions asexuée et sexuée sont toujours simultanément présentent dans la nature (Jones 2000). De plus ces deux espèces sont hétérothalliques, c'est-à-dire que la reproduction sexuée se fait uniquement entre des individus de signes sexuels complémentaires. Comme ces champignons sont haploïdes, un éventuel écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ne peut être testé par une estimation du niveau d'hétérozygotie. Cependant, peu de déséquilibre de liaison entre marqueurs ont été détectés chez *M. fijiensis* (Carlier *et al.* 1996) et *M. musicola* (Thèse d'Helen Hayden, Université de Brisbane, Australie, (Hayden *et al.* 2005) montrant l'existence de populations panmictiques. Nous avons initié des études plus récemment chez *Microcyclus ulei*, champignons ascomycète responsable d'une maladie foliaire de l'hévéa (post doc de Benoit Barrès, CIRAD-Michelin). La reproduction sexuée n'a pas encore était observée dans le cas de cette espèce. Peu de déséquilibre de liaison entre des marqueurs microsatellites ont été également détectés chez *M. ulei* suggérant aussi dans ce cas l'existence d'une reproduction sexuée avec des populations panmictiques (manuscrit en préparation).

Clonalité chez *Erysiphe cichoracearum* et *Puccinia tritica*

Erysiphe cichoracearum parasite de cucurbitacées est une espèce hétérothallique. Toutefois la reproduction sexuée n'a jamais était observée en France. Dans ce cas l'existence d'un fort taux de déséquilibre de liaison entre des marqueurs RAPD au sein des populations suggère

Tableau 1. Mise en évidence d'une reproduction clonal chez *Puccinia triticina* responsable de la rouille brune du blé (d'après Goyeau *et al.* 2007).

Genetic characteristics of the two populations sampled from cultivars Soissons and Trémie: G/N , ratio of the number of multilocus genotypes over the total number of individuals; D_G , genotypic diversity; \bar{r}_D , multilocus estimate of linkage disequilibrium (Agapow and Burt, 2001); H_O , observed heterozygosity; H_E , unbiased estimate of expected heterozygosity

Indices	Soissons ($n = 195$)	Trémie ($n = 49$)
<i>Genotypes</i>		
G/N	9/195	8/49
D_G	0.343 ***	0.582 ***
<i>Linkage disequilibrium</i>		
No. of pairs (Q value < 0.01)	26/36	18/28
\bar{r}_D (all mlg ^a)	0.635 ***	0.455 ***
\bar{r}_D (single copy mlg)	0.258 ***	0.110 *
<i>Heterozygosity</i>		
H_O	0.661	0.528
SE	0.4136	0.4392
H_E	0.384 ***	0.392 ***
SE	0.2067	0.1972
<i>F_{IS} per locus</i>		
rb29	-0.554 **	0.412
rb11	-0.781 **	-0.883 **
rb4	-0.735 **	-0.882 **
rb12	-0.990 **	-1.000 **
rb28	-0.990 **	-0.215
rb8	-0.768 **	-0.888 **
rb17	-0.043	0.957
rb25	0.008	-0.043
rb26	-0.066	-0.011
F_{IS} multilocus	-0.724 **	-0.354 **
(variance in F_{IS})	0.165	0.470

Both H_O et H_E were averaged over loci. Standard errors (SE) are indicated. Significant P value (after adjustment for multiple comparisons for F_{IS} values per locus) are indicated.

^a mlg, multilocus genotype.

* Q value < 0.05 .

** Q value < 0.01 .

*** Q value < 0.001 .

Tableau 2. Homozygotie et autofécondation chez *Ustilago scitaminea* responsable du charbon de la canne à sucre (d'après Raboin *et al.* 2007).

Diversity statistics of *U. scitaminea* geographical populations

	Asia		America		Africa		
	All	Philippines	All	Colombia	All	Burkina	Reunion
N	31	16	19	10	29	11	10
Hn.b.	0.5055 (0.1178)	0.573 (0.1045)	0.0060 (0.0248)	0.0118 (0.0474)	0.0477 (0.1312)	0.0509 (0.1419)	0.0434 (0.1319)
Hobs	0.0020 (0.0081)	0.0039 (0.0156)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
P(0.95)	1	1	0.0588	0.0625	0.1176	0.1250	0.1250
A	2.8235	2.8125	1.0588	1.0625	1.2941	1.1875	1.1250

Hn.b., unbiased gene diversity (Nei, 1978).

Hobs, observed heterozygosity.

P(0.95), proportion of polymorphic loci when most frequent allele does not exceed 95%.

A, mean number of alleles per locus.

Standard deviations are indicated in parenthesis.

un rôle mineur de la reproduction sexuée dans les épidémies de ce champignon en France (étude réalisée dans le cadre de la thèse de Marc Bardin, INRA Avignon ; [\(Bardin et al. 1999\)](#)). Dans le cas du champignon basidiomycète *Puccinia triticina* (dicariotique, responsable de la rouille brune du blé) l'existence d'une reproduction clonale était suspectée mais non démontrée. En collaboration avec l'UMR BIOGER (INRA, Grignon), nous avons analysé des échantillons provenant de deux champs à l'aide de marqueurs microsatellites. Nous avons observé une forte proportion de génotypes répétés et de déséquilibres de liaisons ainsi qu'un excès en hétérozygote (Tableau 1, [\(Goyeau et al. 2007\)](#)). Ces observations supportent fortement l'hypothèse d'un fort taux de clonalité chez *P. triticina*.

Autofécondation chez *Ustilago Scitaminea*

Le champignon basidiomycète *U. Scitaminea*, responsable du charbon de la canne à sucre, présente une biologie particulière. Ce parasite est hétérothallique avec un système bipolaire diallèlique. Le mycélium dikaryotique infectieux est formé par la fusion de sporidies haploïdes de signes sexuels compatibles. Cependant ces sporidies peuvent être issues, après méiose, de différentes ou d'une même téliospore, ce qui revient respectivement à de l'allofécondation ou de l'autofécondation. Une étude de population de ce parasite a été réalisée en collaboration avec l'UMR DAP (dans le cadre de la thèse de Louis Marie Raboin, CIRAD) afin de préciser son régime de reproduction. Presque tous les isolats diploïdes que nous avons analysé à l'aide de 17 marqueurs moléculaires étaient homozygote à tous les locus (tableau 2, [\(Raboin et al. 2007\)](#)). L'autofécondation est donc le mode de reproduction prédominant chez *U. scitaminea*. Cette autofécondation peut être favorisée par certains mécanismes (tel que la fusion de cellules haploïdes au sein d'un même promycélium) et/ou par l'absence fréquente d'un partenaire. En effet, la germination simultanée et proche de deux teliospores dans un même bourgeon semble peu probable.

2.2.2. Dispersion et dérive génétique

La dispersion d'individus d'une espèce donnée peut entraîner soit la colonisation de nouveaux milieux soit des flux de gènes entre populations établies (Slatkin 1987). Il est donc important de quantifier cette dispersion et d'en déterminer les processus ce qui est encore assez peu connu chez les champignons (Brown & Hovmoller 2002). Les capacités de dispersion des champignons sont potentiellement importantes au travers d'une production

importante de spores (Agrios 2005). Toutefois, les champignons phytopathogènes peuvent être également dispersés par des mouvements de matériels végétal infectés. La dispersion est classiquement quantifiée de façon directe en suivant le mouvement des individus. Dans le cas des champignons pour lesquels les spores sont microscopiques, des pièges à spores sont utilisés (Burt *et al.* 1999). La dispersion peut aussi être estimée en mesurant un gradient de maladie à partir d'une source d'inoculum (Tobler 2007). Ces analyses sont souvent réalisées à l'échelle d'une parcelle et dépendent éventuellement de conditions locales particulières. De plus elles ne prennent pas en compte les mouvements de matériel végétal infecté.

La dispersion peut être appréhendée alternativement par une approche indirecte basée sur des études de structure des populations dans l'espace à l'aide de marqueurs neutres (Rousset 2001). En effet, la structure de populations d'une espèce donnée dépendra de la balance entre la migration et la dérive génétique. Cette balance variera selon l'échelle géographique considérée et la distance de dispersion des individus. Si cette distance est très inférieure par rapport à l'échelle géographique considérée (comme par exemple l'échelle du globe), les événements de dispersion peuvent être rares et stochastiques entraînant des effets de fondation et de forte différenciation génétique entre populations (Brown & Hovmöller 2002). De tels événements peuvent être dus à une dispersion de spores sur de longue distance ou à des mouvements de matériel végétal infecté. La structure des populations peut être différente lorsque l'échelle d'étude se rapproche de la distance de dispersion des spores. Cette dispersion peut devenir plus graduelle entraînant un patron d'isolement par la distance. Un tel patron se caractérise par l'existence d'une corrélation entre distance géographique et génétique entre les populations (Wright 1943; Rousset 1997). Ainsi nous avons étudié la structure des populations de champignons pour inférer l'importance relative des différents modes de dispersion de ces organismes à différentes échelles géographiques (de la plante au globe).

La dispersion ne dépendra pas uniquement des caractéristiques biologiques de l'organisme étudié mais également du paysage. En particulier certains éléments du paysage peuvent constituer des barrières pour la dispersion des spores. L'intégration de la génétique des populations et de l'écologie a donné naissance à une nouvelle discipline, la génétique du paysage (Manel *et al.* 2003). Elle permet d'identifier les variables environnementales et géographiques pertinentes qui structurent les populations. De telles études sont aujourd'hui

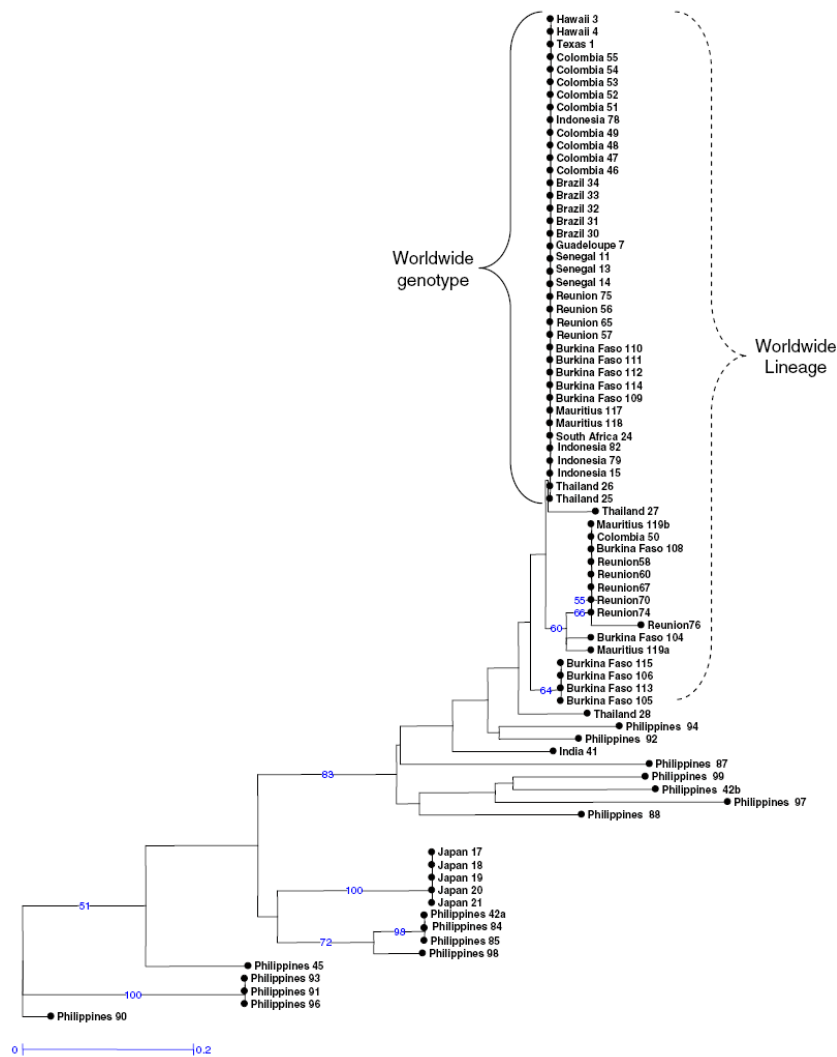


Figure 7. Structure mondiale des populations d'*Ustilago scitaminea* responsable du charbon de la canne à sucre (d'après Raboin *et al.* 2007).

facilitées grâce au développement récent de méthodes d'assignation prenant en compte la localisation spatiale des individus (Guillot *et al.* 2005). Une première utilisation de ces méthodes à un champignon phytopathogène a été réalisée avec *M. fijiensis*

Effet de fondation et dispersion stochastique aux échelles mondiale et continentale

L'impact d'événements démographiques majeurs tels que des effets de fondation sur la structure des populations est souvent observé chez des espèces invasives de plantes ou d'animaux (Dlugosch & Parker 2008). Ces effets de fondation entraînent, par dérive génétique, une perte de diversité génétique dans les populations introduites relativement aux populations d'origines. Peu de cas ont été décrits chez les champignons. Nous avons mis en évidence les traces d'effets de fondation chez plusieurs champignons provoquant des maladies émergentes de plantes suite à une expansion géographique récente.

A l'échelle mondiale, un niveau de diversité génétique plus élevé a été détecté chez *M. fijiensis*, *M. musicola* (parasites du bananier) et *U. scitaminea* (parasite de la canne à sucre) dans le Sud-Est asiatique, centre d'origine des espèces hôtes et vraisemblablement de ces parasites. Les effets de fondation ont aussi entraîné une forte différenciation génétique entre les populations de différents continents chez *M. fijiensis* and *M. musicola* ($F_{st} = 0.025$ à 0.58 , (Carlier *et al.* 1996, Hayden, 2003 #103) Hayden *et al.* 2003b). Le cas de *U. scitaminea* est extrême avec la diffusion à l'échelle du globe d'une seule lignée (Figure 7, Raboin *et al.* 2007). La mise en évidence de ces effets de fondation à l'échelle mondiale suggère des événements d'introduction très limités dans les différents continents vraisemblablement due à des introductions de matériel végétal infecté.

L'impact d'effets de fondation sur la structure des populations a été également observé à l'échelle continentale chez plusieurs parasites que nous avons étudié : chez *M. fijiensis* en Afrique et en Amérique Latine (thèse de Galileo Rivas, CATIE, Costa Rica ; Rivas *et al.* 2004), chez *M. musicola* en Australie (post doc d'Helen Hayden, Université de Brisbane, Australie ; Hayden *et al.* 2005) et chez *M. ulei* en Amérique latine (post doc de Benoit Barrès, CIRAD-Michelin, manuscrit en préparation). De forts niveaux de différenciation génétique entre populations de différents pays ou régions ont été estimés. Ici encore, la détection de ces effets de fondation suggère des événements rares de dispersion à longue distance, soit de spores soit de matériels végétal infectés. Une étude de génétique du paysage est en cours au Brésil chez *M. ulei* afin de comprendre la dispersion de ce parasite à l'échelle continentale à partir de son aire d'origine probable : la forêt amazonienne.

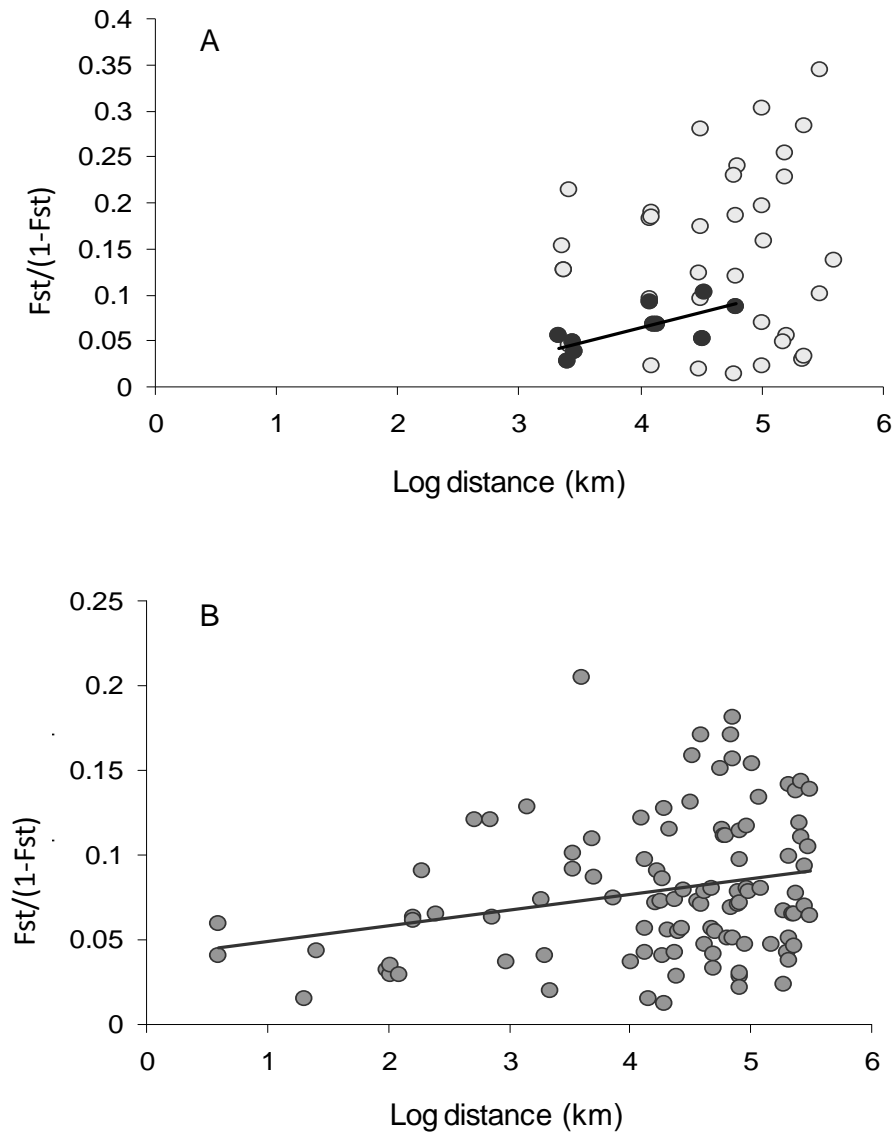


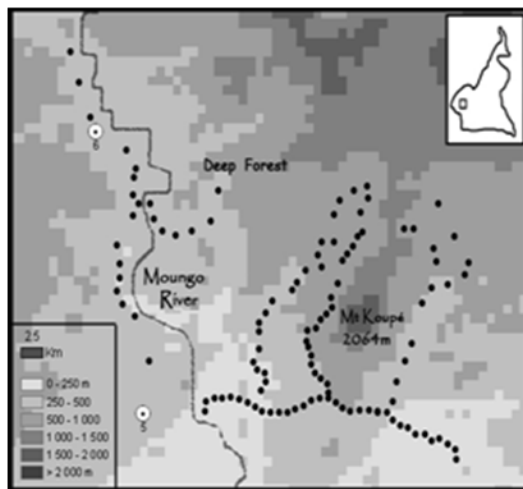
Figure 8. Isolement par la distance chez *M. fijiensis*. **A**, au Cameroun pour des populations situées avant une discontinuité génétique (points noirs). **B**, au Costa Rica pour toutes les populations analysées (d'après Halkett et al, en révision pour *Molecular Ecology*)

Isolement par la distance et dispersion graduelle chez *M. fijiensis* dans un bassin de production

Nous avons réalisé chez *M. fijiensis* une étude à l'échelle d'une zone de production sur quelques centaines de kilomètres au Costa Rica et au Cameroun (thèse de Galileo Rivas ; post doc de Fabien Halkett, CIRAD ; Halkett *et al.* en révision pour Molecular Ecology). L'invasion de ces deux pays, commencée dans la même période (1979-80), est documentée (Gonzalez 1987 ; Fouré & Lescot 1988). Dans les deux pays 10 à 15 populations ont été échantillonnées régulièrement le long d'un transect de 250 à 300 km environ. Une différenciation génétique (F_{st} global = 0.075 à 0.119) et un patron d'isolement par la distance ont été détectés dans les deux pays suggérant une expansion continue de la maladie à cette échelle par une dispersion graduelle de spores (Figure 8). Cependant, des traces de la colonisation récente de ces régions par *M. fijiensis* sont retrouvées dans la structure de populations pathogènes. Dans le cas du Costa Rica, les populations ne sont pas à l'équilibre génétique. La zone de collecte dans ce pays est une région montagneuse avec une distribution non continue des plantations de bananier. Des effets de fondation (toutefois beaucoup moins importants que ceux détectés à des échelles géographiques supérieures) ont donc pu accompagner la dissémination de la maladie dans cette zone. Les populations du Cameroun apparaissent à l'équilibre alors que la distribution de l'hôte est plus continue dans la zone d'étude. Par contre, nous avons mis en évidence une discontinuité génétique majeure vers le milieu du transect qui pourrait résulter d'une barrière au flux de gènes. Le design de la présente étude considérant des populations discrètes séparées de quelques dizaines de kilomètres ne permet pas de localiser précisément la discontinuité et ainsi une éventuelle barrière. Une étude de génétique du paysage sera nécessaire pour tester cette hypothèse.

Peu d'études d'isolement par la distance ont été conduites à l'échelle d'un bassin de production chez des champignons parasites de plantes (i.e. quelques centaines de km) et dans la plupart des cas un patron d'isolement par la distance n'a pas été détecté (Delmotte *et al.* 1999 ; Giraud 2004 ; Breuillin *et al.* 2006 ; Guerin *et al.* 2007). Dans le cas de *M. fijiensis*, un tel patron a été observé au Costa Rica et au Cameroun. Les flux de gènes peuvent être inférés en utilisant le modèle d'isolement par la distance à partir de la pente de régression entre la différenciation génétique et la distance géographique (Rousset 1997 ; Hardy & Vekemans 1999 ; Rousset 2000 ; Vekemans & Hardy 2004). Cependant, il y a de plus en plus d'études qui montrent que des conditions de non équilibre et des traces de l'histoire

A



B

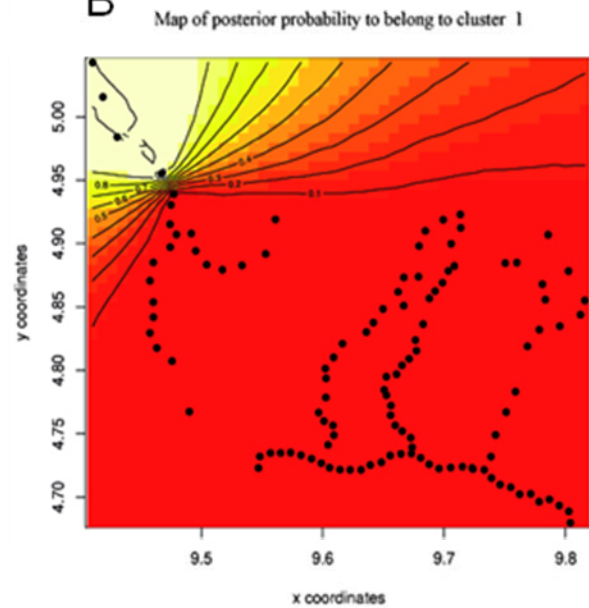


Figure 9. Génétique du paysage chez *Mycosphaerella fijiensis*. **A)** Des échantillons ont été collectés dans une zone de 50x50 km. Chaque site de prélèvement (un point = un site = un bananier), a été placé sur une carte qui comprend des données géographiques (rivières, topographie). Environ 560 isolats ont été génotypés avec 14 marqueurs microsatellites. **B)** Les données obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel GENELAND (Guillot *et al.* 2005) qui cherche à définir des populations à partir des données génétiques et des coordonnées spatiales des sites de prélèvement. Cette analyse met en évidence deux populations génétiquement différenciées ($F_{st} = 0.14$) avec une discontinuité génétique franche qui ne correspond à aucune barrière potentielle au flux de gènes. La structure des populations de *M. fijiensis* observée semble donc résulter de l'histoire récente de l'expansion au Cameroun de cette espèce invasive (Rieux *et al.* manuscrit en préparation).

des populations peuvent biaiser les estimations des flux gènes actuels en utilisant des méthodes indirectes. Dans notre étude, les pentes de régression diffèrent grandement entre les deux pays échantillonnés. Ceci entraînerait une estimation très différente des capacités de dispersion des spores en considérant que la densité des populations de *M. fijiensis* est la même dans les deux pays. Comme les populations au Costa Rica ne sont pas à l'équilibre et que la pente au Cameroun est estimée avec seulement cinq populations, l'isolement par la distance détecté dans les deux bassins de production ne peut être utilisé pour inférer les flux de gènes.

Faible impact du paysage sur les populations de *M. fijiensis*.

Une première étude de génétique du paysage a été menée chez *M. fijiensis* afin de décrire plus précisément la structure des populations dans l'espace et de détecter d'éventuelles barrières au flux de gène (Thèse d'Adrien Rieux, Université Montpellier II ; Projet Européen CIRAD-CARBAP-BAYER). Des échantillons ont été prélevés sur des bananiers répartis dans une zone de 50x50 km (Figure 9 ; Rieux *et al.* manuscrit en préparation). Cette zone encadre la discontinuité génétique observée dans l'étude précédente ainsi qu'un certain nombre de caractéristiques du paysage pouvant constituer des barrières aux flux de gènes. Les isolats ont été génotypés à l'aide de 14 microsatellites. L'analyse de ce jeu de données avec des méthodes d'assignation spatialisées (e. g. Geneland, (Guillot *et al.* 2005) met en évidence l'existence de deux populations présentant une différenciation génétique ($F_{st} = 0.15$). Nous retrouvons la discontinuité génétique observée précédemment. La méthode pour tester l'isolement par la distance en populations continues (Rousset 2000) a été adapté aux espèces haploïdes en collaboration avec François Rousset. L'absence d'isolement par la distance au sein de chacune des deux populations détectées montre que la discontinuité entre elles est franche. Cependant, aucun élément du paysage ne peut constituer une barrière aux flux de gènes dans la zone où la discontinuité a été localisée. De plus, les différents éléments du paysage présents dans la zone d'étude pouvant constituer d'éventuelles barrières aux flux de gènes n'ont aucun impact sur la structure des populations.

La structure des populations observées dans cette zone pourrait refléter un événement historique survenu il y a 20 ans lors de la dissémination de la maladie des raies noires en

Afrique (Mourichon & Fullerton 1990). Les données historiques de cette dissémination au Cameroun à partir de 1985 suggèrent une origine commune de *M. fijiensis* au sud de la discontinuité. Nous n'avons pas d'information pour la partie nord et l'expansion de la maladie dans cette partie pourrait avoir pour origine un événement d'introduction distinct. La différenciation génétique observée au niveau de la discontinuité résulterait ainsi d'un effet de fondation suite à un événement de dispersion à longue distance, comme observé à l'échelle continentale (Rivas *et al.* 2004). Alternativement cette discontinuité génétique aurait pu apparaître malgré une expansion géographique continue par un phénomène appelé 'surfing' (Excoffier & Ray 2008). Des études théoriques et empiriques récentes montrent que ce phénomène peut être favorisé par des constriction dans le paysage (Cunningham *et al.* 2009 ; Rees *et al.* 2009). Or la discontinuité génétique mise en évidence dans notre étude est localisée dans une vallée (Figure 9).

Comment expliquer le maintien d'une discontinuité aussi franche entre deux populations 20 ans après la colonisation du Cameroun (soit aux alentours de 100 à 200 générations si on considère 5 à 10 générations/an, le cycle sexué s'effectuant en 30 jours en conditions optimales) ? Les flux de gènes devraient tendre à homogénéiser les populations. Mais ceci dépend de la balance entre flux de gènes et dérive génétique et ainsi des effectifs efficaces des populations. Une étude théorique montre, dans le cas de forts effectifs efficaces, qu'un faible impact des flux de gènes est attendu sur une différenciation génétique survenue entre des populations suite à un événement de fondation (Boileau *et al.* 1992). Chez *M. fijiensis*, on peut dénombrer plus de 15000 lésions sur une feuille de bananier (Gauhl 1994) ce qui correspondrait à un effectif de plus de $15 \cdot 10^6$ par hectare de bananier. Même si tous les individus ne participent pas à la constitution de la génération suivante, on peut supposer chez cette espèce des effectifs efficaces de très grandes tailles. Chez l'espèce proche *M. graminicola*, un effectif efficace de l'ordre de $24 \cdot 10^3$ a été estimé pour une population d'un champ de blé (Zhan & McDonald 2004). La dérive génétique serait ainsi négligeable ce qui permettrait le maintien de la structure mise en place lors de la colonisation du Cameroun par *M. fijiensis*. L'existence de fort effectif efficace chez *M. fijiensis* pourrait également expliquer l'absence d'effet des différents éléments du paysage sur la structure des populations. Une étude récente par simulation montre que des barrières peuvent être difficiles à détecter par analyse de la variabilité génétique dans le cas d'espèces présentant une expansion récente et de forts effectifs (Gauffre *et al.* 2008). Enfin, ces forts effectifs expliqueraient la non détection d'un isolement par la distance au sein des populations. Nous avons réalisé des

Effective size

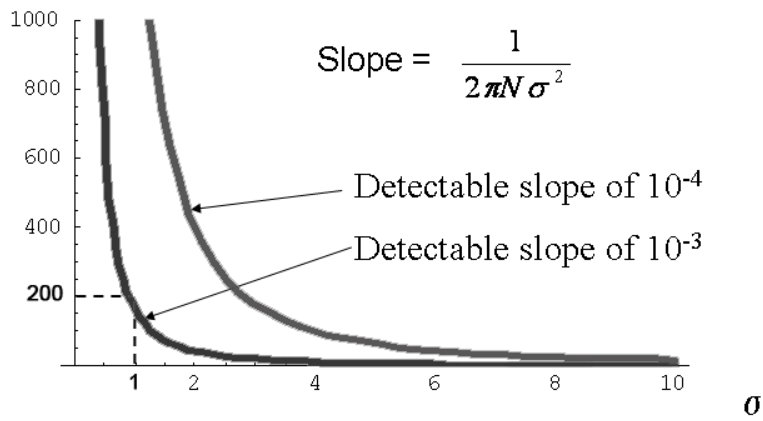


Figure 10. Distribution de l'effectif efficace en fonction de σ^2 (moyenne des carrés des distances de dispersion parents-descendants) pour des valeurs de pente fixées selon le modèle d'isolement par la distance en populations continues (Rousset, 2000).

simulations avec le programme IBDsim (Leblois *et al.* 2009) qui montrent que l'analyse faite à partir de notre stratégie d'échantillonnage est suffisamment puissante pour détecter une pente $< 10^{-3}$. La figure 10 traduit la relation entre effectif efficace et dispersion selon la méthode de Rousset (2000). Ainsi, même pour une dispersion faible (par exemple de bananier à bananier c'est-à-dire avec $\sigma=1$) une pente de 10^{-3} ne sera pas statiquement détectable si l'effectif efficace par bananier est supérieur à 200. Ce chiffre apparaît très faible par rapport au nombre de lésions dénombrées sur une même feuille. Des études devront être réalisées pour estimer les effectifs efficaces dans des populations de *M. fijiensis* et tester l'hypothèse de l'existence de tailles importantes.

2.3. Traits d'agressivité

Les programmes d'amélioration génétique utilisent de plus en plus les résistances partielles (quantitatives) supposées plus durables, car non contournées par les parasites comme le sont les résistances spécifiques (qualitatives). Cependant, les parasites pourraient s'adapter aux résistances partielles par l'évolution de leur agressivité (la composante quantitative du pouvoir pathogène). Il nous est apparu important de faire dans un premier temps un état des connaissances acquises sur l'agressivité et son rôle dans l'adaptation des populations pathogènes. Ce travail a fait l'objet d'une revue réalisée en collaboration avec l'UMR BIOGER (Pariaud *et al.* 2009). Il souligne qu'effectivement les parasites peuvent s'adapter et éroder les résistances partielles et montre l'importance de considérer les différentes composantes ou traits de l'agressivité (tels que l'efficacité d'infection, la période de latence, le taux de sporulation, la période infectieuse et la taille des lésions). L'adaptation des parasites, et par conséquent la durabilité des résistances ou de leur stratégie d'utilisation, pourraient dépendre de l'architecture génétique des traits d'agressivité et de l'existence éventuelle de corrélations entre ces traits. La décomposition de l'agressivité en différents traits permet de les replacer par rapport aux notions classiquement utilisées en épidémiologie évolutive (i. e. les notions de valeur sélective et de virulence) et ainsi de bénéficier des travaux théoriques réalisés dans ce domaine. Cette synthèse est à l'origine du développement d'une approche théorique sur l'évolution des traits d'agressivité chez les champignons initiés lors d'un post doc (Fabien Halkett, CIRAD) et poursuivi aujourd'hui dans l'équipe par Virginie Ravigné en collaboration avec Fabien Halkett (aujourd'hui à l'INRA de Nancy).

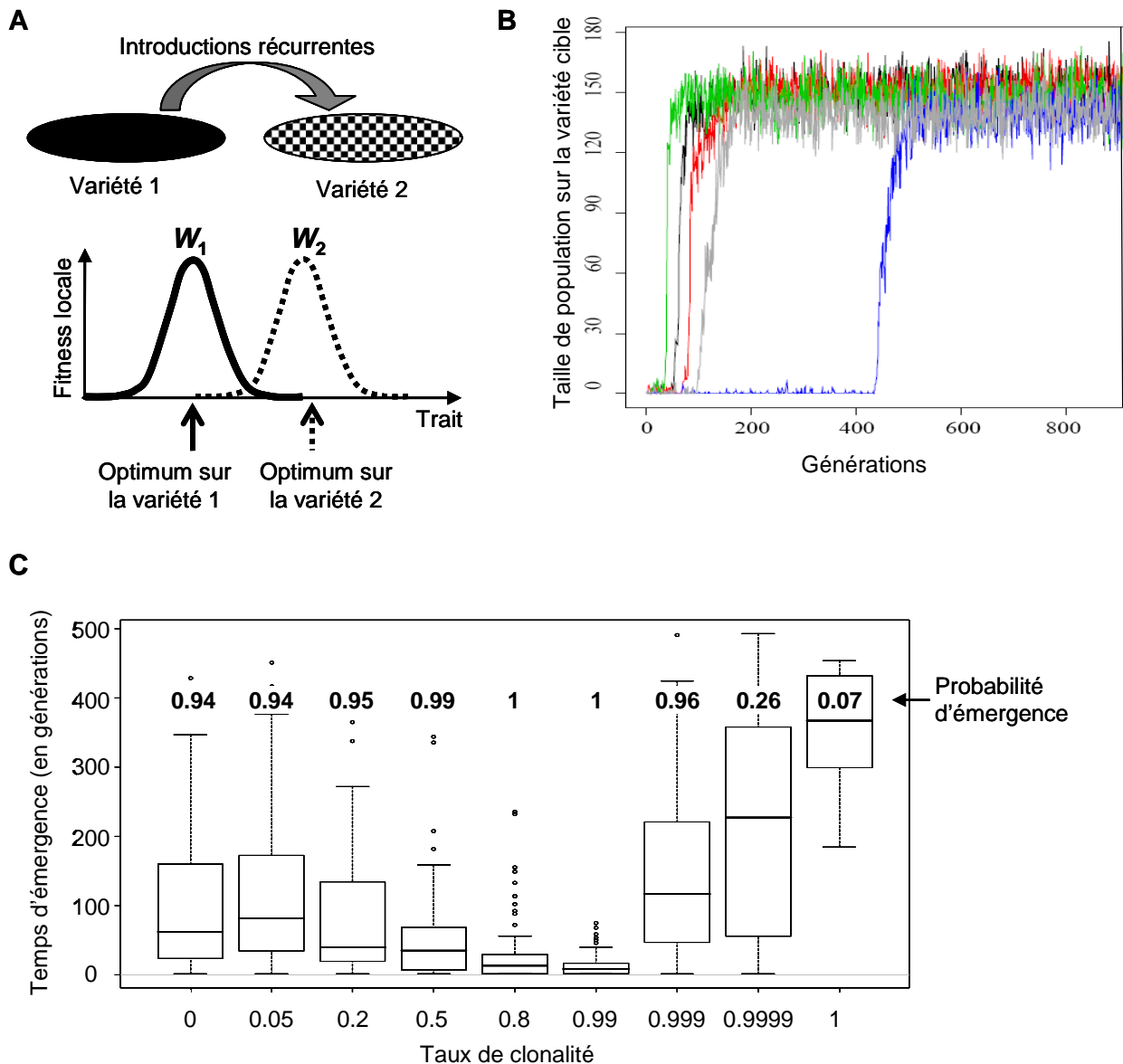


Figure 11 : Effet du taux d'asexualité sur la dynamique d'adaptation des champignons à un nouveau milieu. A) Principe du modèle : on simule (avec le logiciel QuantiNemo modifié par l'équipe) des introductions dans un nouveau milieu (ici une nouvelle variété) à partir d'une population source (à l'équilibre mutation-sélection-dérive sur une autre variété). Les deux milieux ne diffèrent que par leur optimum pour un trait donné du champignon. **B)** Exemples de simulation de la dynamique des populations dans le nouveau milieu. **C)** Probabilité et temps d'émergence moyens (estimés sur 100 réplicas) dans le nouveau milieu en fonction du taux d'asexualité du champignon.

2.4. Dynamique d'adaptation

Dans le cadre d'un post doc (Eric Bazin, CIRAD-Projet ANR Emerfundis) nous avons initié des travaux théoriques sur la dynamique d'adaptation des champignons à un nouveau milieu. Ce nouveau milieu peut être soit un nouveau lieu soit une nouvelle variété. Les champignons parasites de plantes présentant souvent des régimes de reproduction mixte sexuée/asexuée, nous avons tout d'abord abordé l'impact de l'asexualité sur la dynamique d'adaptation. Cet aspect n'a pas été pris en compte dans les études par simulation auparavant publiées (Holt *et al.* 2003). Le modèle de simulations démo-génétiques quantiNEMO (Neuenschwander *et al.* 2008) a été modifié afin de prendre en compte un régime mixte de reproduction. A l'aide de ce modèle nous avons simulé des introductions récurrentes dans un nouveau milieu à partir d'une population source à l'équilibre mutation-sélection-dérive dans un autre milieu. Les deux milieux ne diffèrent que par leur optimum pour un trait donné du champignon (Figure 11 A). Un exemple de sortie de ces simulations est présenté dans la Figure 11 B. Lorsque les optimums ne sont pas trop différents et que la migration est suffisante, on peut assister à l'émergence de nouvelles populations. Ce processus est toutefois stochastique comme le montre les différences observées entre des répliques pour un même jeu de paramètres. Les principaux facteurs influençant le succès des émergences sont les différences entre les optimums de deux milieux et les paramètres de mutation. Toutefois, l'asexualité joue un rôle non négligeable. Les émergences les plus fréquentes et les plus rapides sont observées pour des taux d'asexualité intermédiaires (Figure 11 C). Ceci serait principalement dû à la capacité des espèces présentant des taux d'asexualité intermédiaires à maintenir une plus grande variance génétique dans la population source (Bazin *et al.* en préparation).

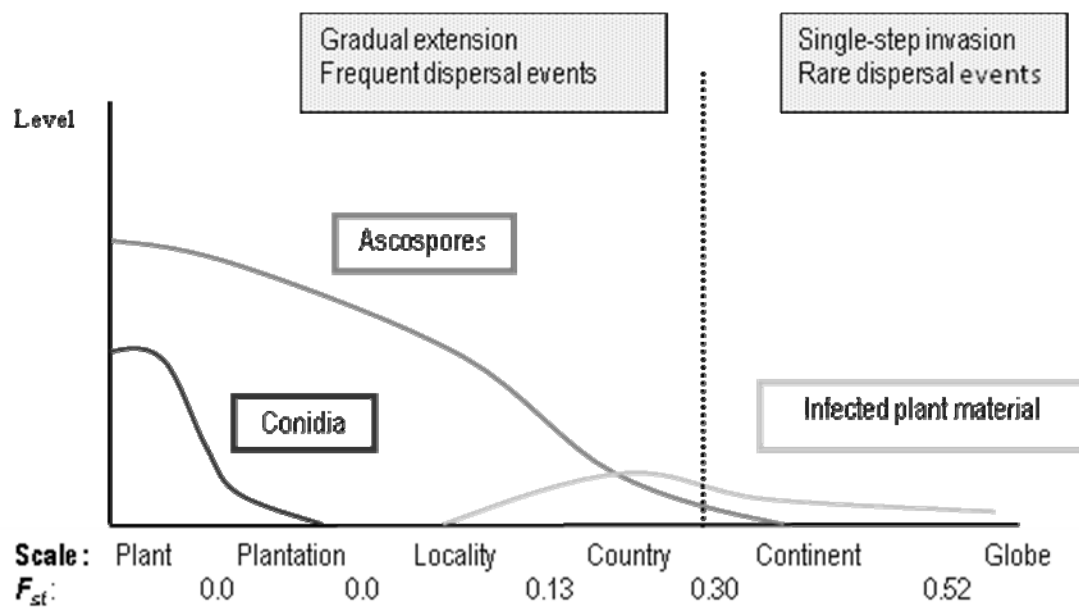


Figure 12: Importance relative hypothétique des trois modes de dispersion du champignon *Mycosphaerella fijiensis* en fonction de l'échelle géographique et de la différenciation génétique entre les populations (estimé par le paramètre F_{st} , d'après Carlier 2004).

3. Perspectives

Les études réalisées jusqu'à ce jour sur la génétique des populations de champignons nous ont permis de décrire le régime de reproduction et les processus de dispersion de tels organismes. En particulier, nous avons appréhendé par l'étude de la structure des populations de *M. fijiensis* à différentes échelles géographiques les processus de dispersion sous jacents (Figure 12, Carlier, 2004). Aux échelles macro-géographiques (globe, continents), les événements de dispersion sont rares, plus vraisemblablement par des mouvements de matériel végétal infecté. Les processus démographiques accompagnant ces événements entraînent des modifications importantes dans la structure des populations. Aux échelles géographiques inférieures, les événements de dispersion deviennent de plus en plus fréquents au travers de la dispersion naturelle des spores favorisant les flux de gènes entre populations et ainsi leur homogénéisation. Plus récemment nous avons initié des travaux sur les traits d'agressivité et la dynamique d'adaptation des populations pathogènes.

Les études que je souhaite développer dans les années à venir auront pour objectif principal d'identifier les possibilités d'évolution des traits d'agressivité d'un champignon phytopathogène, entraînant une adaptation dans un agrosystème lors d'une invasion ou en réponse à la sélection exercée par la résistance partielle. Je m'intéresserai aussi à l'évolution de la résistance à des fongicides dans un agrosystème comme un premier cas d'étude plus simple d'adaptation à un environnement hétérogène. Mon modèle d'étude restera le pathosystème *M. fijiensis*/ bananier. La biologie de ce champignon responsable d'une pandémie récente présente comme nous l'avons déjà vu certains avantages pour réaliser des études de génétiques de populations. Une limitation de l'utilisation de fongicides pour contrôler ce parasite est aujourd'hui incontournable. Dans ce but, des stratégies durables d'utilisation des fongicides et de nouvelles variétés de bananier (issues de programmes d'amélioration génétique et présentant une résistance partielle) doivent être définies.

L'adaptation dépend de l'interaction entre toutes les forces évolutives avec notamment la balance entre la migration et la sélection (Lenormand 2002). Des paramètres reliés à ces forces doivent ainsi être estimés afin de pouvoir les intégrer dans des modèles. Concernant la dérive génétique et la migration, nous disposons aujourd'hui de nouveaux outils utiles pour une compréhension plus approfondie des mécanismes sous-jacents, en testant des scénarios de colonisation, en inférant des paramètres reliés à ces forces et en intégrant le

paysage (Excoffier & Heckel 2006). Dans ce but des études d'épidémiologie, de phylogéographie et de génétique des populations seront poursuivies chez *M. fijiensis*. Nous étudierons également chez cette espèce l'impact sur l'évolution des traits d'agressivité d'événements tels que les goulots d'étranglements ou l'admixture (mélange d'individus provenant de populations divergentes) et des pressions de sélection exercées par la résistance partielle. Peu de travaux ont été réalisés sur ces aspects chez des champignons phytopathogènes (Keller & Taylor 2008).

Les travaux théoriques sur les contraintes exercées sur les traits d'agressivité seront poursuivis dans l'équipe. Parallèlement à ces travaux, nous étudierons chez *M. fijiensis* les relations entre les traits d'agressivité et nous développerons une approche de 'genome scan' pour élucider les bases génétiques de l'évolution de ces traits. Enfin, je participerai au développement de modèles démo-génétiques pour mieux comprendre la dynamique d'adaptation de *M. fijiensis* dans les agrosystèmes, en fonction de stratégies d'utilisation de résistances partielles ou de fongicides.

3.1. Inférence de paramètres reliés aux forces évolutives chez *M. fijiensis*

3.1.1. Dérive génétique et migration

Une étude de phylogéographie sera conduite chez *M. fijiensis* pour retracer l'histoire de l'expansion de ce parasite (thèse de Stéphanie Robert, Université Montpellier II ; Projet ANR Emerfundis). Le but de cette étude est de mieux comprendre les processus de dispersion aux échelles mondiale et continentale et de détecter ou d'estimer l'intensité d'événements démographiques comme des goulots d'étranglement et des événements d'admixture. Peu d'études de ce type ont été réalisées chez les champignons (Beheregaray 2008; Lumbsch *et al.* 2008). Or, nous disposons pour *M. fijiensis* d'une collection mondiale d'isolats et de données historiques assez précises retraçant l'expansion de cette espèce. De nouveaux échantillons seront collectés dans des zones d'expansion récentes comme les caraïbes. Aux différentes échelles géographiques, des données génétiques (marqueurs microsatellites, séquences de gènes nucléaires) seront analysées par différentes méthodes utilisées en phylogéographie et en génétique des populations. Nous exploiterons en particulier le logiciel DIYABC (Cornuet *et al.* 2008) adapté aux espèces haploïdes par Virginie Ravigné qui permet

par la méthode ABC (Approximate Bayesian Computation) de tester différents scénarios d'évolution et d'inférer des paramètres (effectifs efficace, temps de divergence entre populations...).

A une échelle plus locale (parcelle et bassin de production), la fonction de dispersion des ascospores sera estimée par des études directes et indirectes (thèse d'Adrien Rieux). Nous nous inspirerons de la méthode directe de (Klein *et al.* 2006) développée pour estimer la fonction de dispersion du pollen chez des plantes comme le colza. Des plantes transgéniques résistantes à un herbicide ont été introduites au milieu d'un champ expérimental. La production de graines résistantes (issus d'une fécondation par du pollen transgénique) a été quantifiée dans le champ mettant en évidence un gradient à partir du centre. Ce gradient est utilisé pour estimer la fonction de dispersion. Nous projetons d'appliquer cette méthode en suivant la dispersion d'une résistance à un fongicide à partir d'une source dans une parcelle isolée. Parallèlement nous tenterons d'estimer la dispersion moyenne des ascospores par une méthode indirecte basée sur l'analyse d'un cline (Lenormand *et al.* 1998). Les clines ou gradient de fréquence pour un allèle sont générés et maintenus par un équilibre entre la sélection et la migration ce qui permet, grâce à un modèle, d'estimer des paramètres reliés à ces deux forces. Dans le cas de *M. fijiensis*, nous rechercherons un gradient pour des fréquences de résistances à des fongicides entre des zones traitées et non traitées au Cameroun. Des études de génétique du paysage seront poursuivies chez *M. fijiensis* dans la même région sur une échelle plus large afin de mettre en évidence un effet sur la structure des populations d'éléments du paysage ou encore de la présence de zones traitées par des fongicides. La mise au point récente du génotypage à partir d'ADN extraits directement de lésions et par multiplexage des microsatellites permet aujourd'hui de réaliser ce type d'étude avec le traitement de larges effectifs (Robert *et al.*, en préparation).

Les deux types de spores produites par des champignons tel que *M. fijiensis*, conidies et ascospores, sont impliquées dans la dissémination de la maladie à l'échelle de la plante et de la parcelle (Jones 2000). Les ascospores seraient plutôt disséminées de la plante à la parcelle alors que les conidies participeraient plus à la ré-infestation du feuillage. Cependant, le ratio de la dispersion par les ascospores et les conidies n'a jamais été quantifié chez des champignons tels que *M. fijiensis*. Or, les fonctions de dispersion étant certainement différentes entre les deux types de spores, ce ratio aura un impact sur le déroulement des

épidémies et la migration entre plantes et parcelles. La présence d'une reproduction clonale chez un organisme entraîne dans les populations l'apparition de génotype répétés et de déséquilibre de liaison entre marqueurs moléculaires (de Meeus & Balloux 2004). Ainsi l'estimation de ces paramètres permet d'appréhender le taux de reproduction clonal. Chez *M. fijiensis*, les études de populations ont été réalisées à partir d'isolats clonés à partir d'une ascospore donc issue d'une reproduction sexuée. Or, une lésion sur une plante peut avoir pour origine soit une conidie soit une ascospore. La mise au point du génotypage à partir d'ADN extrait directement de lésions permet d'envisager aujourd'hui d'estimer, par l'utilisation de marqueurs moléculaires, les taux de reproduction sexuée et asexuée. Cette estimation se fera à partir de l'analyse hiérarchique de lésions collectées dans un groupe de plantes voisines.

3.1.2. Sélection et évolution de traits d'agressivité

Les premiers résultats obtenus sur la structure génétique des populations de *M. fijiensis* nous amène à suspecter l'existence de goulots d'étranglements et d'événements d'admixture ayant accompagné l'expansion de *M. fijiensis* à travers le monde. Les goulots d'étranglement peuvent entraîner une baisse ou une augmentation du potentiel adaptatif (Dlugosch & Parker 2008 ; Keller & Taylor 2008). La création de nouvelles populations par admixture entre des populations génétiquement différenciées peut également entraîner une augmentation du potentiel adaptatif favorisant le succès d'invasion. Cependant à ce jour, peu de travaux expérimentaux mettent en évidence et/ou quantifient ces effets notamment chez des champignons pour des traits d'agressivité. Des croisements entre des individus issus de populations génétiquement différenciées de *M. fijiensis* seront réalisés en laboratoire. L'éventuel progrès adaptatif des populations ainsi constituées sera estimé en les comparant avec les populations d'origines pour des traits d'agressivité.

Par ailleurs, le rôle relatif de la dérive (suite à des goulots d'étranglement) et de la sélection lors d'une expansion peut être abordé à partir de populations naturelles en comparant la différenciation pour des marqueurs neutres (paramètre F_{st}) et des traits sélectionnés (paramètre Q_{st}) entre des populations provenant de zones natives et envahies (Keller & Taylor 2008). Pour un trait donné, une sélection diversifiante ou stabilisatrice sera détectée si le Q_{st} pour ce trait est respectivement supérieur ou inférieur au F_{st} (McKay & Latta 2002).

Cette approche a été très peu utilisée chez des champignons phytopathogènes. Une étude chez *Mycosphaerella graminicola* (parasite du blé) a permis de mettre en évidence un effet sélectif pour certains traits (Zhan *et al.* 2005). Comme *M. graminicola*, *M. fijiensis* présente des caractéristiques biologiques appropriées à ce type d'étude tel que des populations panmictiques et la possibilité de multiplier végétativement les individus isolés pour le phénotypage. Cette approche sera donc appliquée à *M. fijiensis* pour rechercher un éventuel impact de la sélection sur des traits d'agressivité lors de son expansion en comparant des populations d'Asie (zone native) et d'Afrique ou d'Amérique latine (zones envahies). Nous tenterons également de mettre en évidence une éventuelle évolution de traits d'agressivité favorisant l'expansion de *M. fijiensis* en comparant pour ces traits des populations le long d'un transect dans les Caraïbes, zone d'introduction récente.

Des variétés de bananiers partiellement résistantes à *M. fijiensis* sont cultivées depuis plus d'une dizaine d'années à Cuba et en République Dominicaine. Des collaborations avec des instituts de recherche dans ces deux pays ont été établies. Afin de mettre en évidence et d'estimer une intensité de sélection de ces variétés sur les populations pathogènes, la différenciation pour des marqueurs neutres et pour des traits d'agressivité sera comparée entre des populations évoluant sur des hôtes sensibles et résistants (approche Fst/Qst présentée ci-dessus).

3.1.3. Sélection et évolution de la résistance aux fongicides

Les analyses chez *M. fijiensis* de gradients de fréquences de résistances à des fongicides (clines) entre zones traitées ou non, présentées précédemment (voir 3.1.1), permettront également d'estimer une intensité de sélection et de contre-sélection par ces traitements. Parallèlement, des expérimentations seront conduites au champ au Cameroun afin de confronter ces estimations à celles obtenues par une méthode directe (thèse de José Ngando, co-tutelle Universités Yaoundé et Montpellier II). Dans ces expérimentations, des épidémies seront initiées dans des parcelles isolées qui seront traitées par un fongicide appartenant aux groupes des triazoles ou des strobilurines. Ces deux groupes différents par leur mode d'action et correspondent respectivement à des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols ou à des inhibiteurs quinones de la respiration. L'évolution des fréquences des résistants à ces fongicides sera suivie au cours du temps pour estimer l'intensité de

sélection. Les populations seront ensuite suivies sans pression de sélection afin d'estimer l'éventuelle contre-sélection des résistants en l'absence de fongicide. Une contre-sélection pourrait résulter d'un coût de la résistance sur la valeur sélective des isolats comme observé pour des fongicides de mêmes classes chez d'autres champignons (Cox *et al.* 2007; Pasche & Gudmestad 2008). Nous tenterons donc de mettre en évidence chez *M. fijiensis* un éventuel coût des résistances aux fongicides étudiés ci-dessus sur la valeur sélective en comparant les traits d'agressivité de souches résistantes et sensibles en conditions contrôlées.

3.2. Contraintes sur les traits d'agressivité chez *M. fijiensis*

Les données sur l'évaluation de traits d'agressivité chez *M. fijiensis* réalisées en 3. 1.2. seront exploitées pour rechercher l'existence éventuelle de corrélations entre traits. Parallèlement des études seront conduites pour élucider les bases génétiques des traits d'agressivité. Peu d'études sur cet aspect ont été conduites chez les champignons phytopathogènes en comparaison aux nombreux travaux réalisés sur la génétique de la résistance partielle (Ballini *et al.* 2008). Quelques études de ségrégation de traits d'agressivité suggèrent un support polygéniques (Pariaud *et al.* 2009). L'architecture génétique de traits quantitatifs peut être abordée de façon plus précise par la cartographie de QTL (quantitative trait loci). Mais cette approche a été peu utilisée chez les champignons phytopathogènes (Cumagun *et al.* 2004 ; Lind *et al.* 2007). La première limite est qu'un grand nombre de ces organismes se reproduisent de façon asexuée. La deuxième est que ce type d'analyse nécessite le phénotypage des traits étudiés. Or, l'évaluation quantitative des traits d'agressivité chez les champignons est lourde et sujette à une forte variabilité ce qui limite le nombre d'individus et de traits pouvant être analysés. Finalement, la mise en évidence de QTLs par cartographie ne permet pas d'identifier les locus réellement impliqués dans l'adaptation des populations naturelles.

La méthode dite de 'genome scan' est une approche alternative pour élucider les bases génétique de traits impliqués dans l'adaptation (Schlotterer 2003; Storz 2005; Stinchcombe & Hoekstra 2008). Cette méthode permet, grâce à l'utilisation d'un grand nombre de marqueurs répartis le long du génome, de localiser des locus soumis à une sélection par effet 'auto stop'. Elle ne nécessite pas le phénotypage de larges effectifs et elle n'a pas été encore appliquée dans le cas des champignons phytopathogène. *M. fijiensis*, serait un

modèle biologique intéressant pour identifier les bases génétiques de l'évolution de l'agressivité par 'genome scan' car cette espèce reproduit régulièrement par reproduction sexuée et nous disposerons d'un grand nombre de marqueurs cartographiés,. Cette étude se basera sur une comparaison de populations évoluant sur des hôtes sensibles et résistants à Cuba et/ou en République Dominicaine.

3.3. Dynamique d'adaptation de *M. fijiensis* dans les agrosystèmes

L'efficacité de l'utilisation de la résistance partielle dans le contrôle des épidémies dépendra des mécanismes de résistance impliqués et de la façon dont sont disposées ces résistances dans le paysage agricole. De plus, une gestion spatio-temporelle des résistances variétales pourrait permettre d'augmenter leur durabilité. Il est donc nécessaire de développer des modèles pour élaborer des stratégies de gestion efficaces et durables. Peu de travaux en modélisation des épidémies à l'échelle du paysage ont été jusqu'à ce jour réalisés pour tester l'efficacité de stratégies d'utilisation de résistances ou encore de fongicides (Gilligan & van den Bosch 2008; van den Bosch & Gilligan 2008) (Gilligan 2008). De plus ces approches n'intègrent pas les facteurs génétiques qui conditionneront l'adaptation des populations pathogènes et ainsi la durabilité des résistances variétales.

Dans le cas du pathosystème *M. fijiensis*/Bananier, des modèles épidémiologiques seront développés ou adaptés dans l'équipe pour tester l'efficacité de différents mécanismes de résistance et dispositifs spatiaux dans une parcelle et un bassin de production. Pour définir des stratégies qui soient aussi durable, l'enjeu d'une approche par modélisation est de pouvoir aussi prédire les qualités des résistances utilisées, les fréquences de chacune et leurs dispositions spatiales qui permettent de limiter au mieux l'adaptation des agents pathogènes. Cette approche se basera sur la théorie de l'adaptation à un environnement hétérogène. Or la plupart des modèles existants supposent des populations à l'équilibre démographique, ce qui est rarement le cas dans les situations que nous étudions. Des modèles analytiques à visée générale seront développées par Virginie Ravigné en collaboration avec d'autres équipes dans le but de mieux comprendre l'adaptation à un environnement hétérogène dans des situations de déséquilibre démographique. Nous développerons parallèlement dans notre équipe des modèles de simulation démogénétiques pour faire des prédictions sur la dynamique d'adaptation dans des situations

agronomiques particulières en intégrant un plus grand nombre de facteurs (démographiques, génétiques et écologiques). Dans un premier temps nous exploiterons la version modifiée de quantiNemo (Neuenschwander *et al.* 2008) pour comprendre l'évolution de la fréquence de résistances à des fongicides dans des contextes agricoles constitués par des zones traitées ou non. Ce cas d'étude sera un premier pas pour appréhender comment, dans un contexte agricole qui correspond à un environnement hétérogène, la balance entre la migration et la sélection (estimés en 3.1) détermine la dynamique d'adaptation des populations pathogènes. Ce modèle ne permet pas toutefois de simuler l'évolution de traits d'agressivité. Afin d'étudier l'adaptation vis-à-vis des résistances partielles, nous développerons ensuite un autre modèle démo-génétique plus complexe. Ce modèle individu centré et spatialement explicite permettra de caractériser chaque individu pour les traits d'agressivité et intégrera les éventuelles contraintes entre ces traits (abordés en 3.2).

Références bibliographiques

- Abadie C, Zapater MF, Pignolet L, Carlier J, Mourichon X (2008) Artificial inoculation on plants and banana leaf pieces with *Mycosphaerella* spp., responsible for Sigatoka leaf spot diseases. *Fruits* **63**, 319-323.
- Agrios GN (2005) Plant pathology. Elsevier Academic Press, Oxford.
- Anderson PK, Cunningham AA, Patel NG, *et al.* (2004) Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology & Evolution* **19**, 535-544.
- Arzanlou M, Abeln ECA, Kema GHJ, *et al.* (2007) Molecular diagnostics for the sigatoka disease complex of banana. *Phytopathology* **97**, 1112-1118.
- Arzanlou M, Groenewald JZ, Fullerton RA, *et al.* (2008) Multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several novel species of *Mycosphaerella* and related anamorphs on banana. *Persoonia* **20**, 19-37.
- Ballini E, Morel JB, Droc G, *et al.* (2008) A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and quantitative trait loci provides new insights into partial and complete resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **21**, 859-868.
- Bardin M, Carlier J, Nicot PC (1999) Genetic differentiation in the French population of *Erysiphe cichoracearum*, a causal agent of powdery mildew of cucurbits. *Plant Pathology* **48**, 531-540.
- Beheregaray LB (2008) Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology* **17**, 3754-3774.
- Boileau MG, Hebert PDN, Schwartz SS (1992) NONEQUILIBRIUM GENE-FREQUENCY DIVERGENCE - PERSISTENT FOUNDER EFFECTS IN NATURAL-POPULATIONS. *Journal of Evolutionary Biology* **5**, 25-39.
- Breuellin F, Dutech C, Robin C (2006) Genetic diversity of the Chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in four French populations assessed by microsatellite markers. *Mycological Research* **110**, 288-296.
- Brown JKM, Hovmoller MS (2002) Epidemiology - Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease. *Science* **297**, 537-541.
- Burt PJA, Rosenberg LJ, Rutter J, Ramirez F, Gonzales H (1999) Forecasting the airborne spread of *Mycosphaerella fijiensis*, a cause of black Sigatoka disease on banana: estimations of numbers of perithecia and ascospores. *Annals of Applied Biology* **135**, 369-377.
- Carlier J, Lebrun MH, Zapater MF, Dubois C, Mourichon X (1996) Genetic structure of the global population of banana black leaf streak fungus, *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology* **5**, 499-510.
- Carlier J, Mourichon X, Gonzalezdeleon D, Zapater MF, Lebrun MH (1994) DNA RESTRICTION-FRAGMENT-LENGTH-POLYMORPHISMS IN MYCOSPHAERELLA SPECIES THAT CAUSE BANANA LEAF-SPOT DISEASES. *Phytopathology* **84**, 751-756.
- Carlier J, Zapater MF, Lapeyre F, Jones DR, Mourichon X (2000) Septoria leaf spot of banana: A newly discovered disease caused by *Mycosphaerella eumusae* (Anamorph *Septoria eumusae*). *Phytopathology* **90**, 884-890.
- Cornuet JM, Santos F, Beaumont MA, *et al.* (2008) Inferring population history with DIY ABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics* **24**, 2713-2719.
- Cox KD, Bryson PK, Schnabel G (2007) Instability of propiconazole resistance and fitness in *Monilinia fructicola*. *Phytopathology* **97**, 448-453.
- Cullingham CI, Kyle CJ, Pond BA, Rees EE, White BN (2009) Differential permeability of rivers to raccoon gene flow corresponds to rabies incidence in Ontario, Canada. *Molecular Ecology* **18**, 43-53.
- Cumagun CJR, Bowden RL, Jurgenson JE, Leslie JF, Miedaner T (2004) Genetic mapping of pathogenicity and aggressiveness of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) toward wheat. *Phytopathology* **94**, 520-526.
- de Meeus T, Balloux F (2004) Clonal reproduction and linkage disequilibrium in diploids: a simulation study. *Infection Genetics and Evolution* **4**, 345-351.

- Delmotte F, Bucheli E, Shykoff JA (1999) Host and parasite population structure in a natural plant-pathogen system. *Heredity* **82**, 300-308.
- Dlugosch KM, Parker IM (2008) Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology* **17**, 431-449.
- Dutech C, Enjalbert J, Fournier E, *et al.* (2007) Challenges of microsatellite isolation in fungi. *Fungal Genetics and Biology* **44**, 933-949.
- Excoffier L, Heckel G (2006) Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. *Nature Reviews Genetics* **7**, 745-758.
- Excoffier L, Ray N (2008) Surfing during population expansions promotes genetic revolutions and structuration. *Trends in Ecology & Evolution* **23**, 347-351.
- Fouré E, Lescot T (1988) Variabilité génétique des *Mycosphaerella* inféodés au genre *Musa*. Mise en évidence de la présence au Cameroun sur bananiers et plantains d'une cercosporiose (*Mycosphaerella musicola*) au comportement pathogène atypique. *Fruits* **43**, 407-415.
- Gauffre B, Estoup A, Bretagnolle V, Cosson JF (2008) Spatial genetic structure of a small rodent in a heterogeneous landscape. *Molecular Ecology* **17**, 4619-4629.
- Gauhl F (1994) Epidemiology and ecology of black sigatoka, p. 120. INIBAP, Montpellier.
- Gilligan CA (2008) Sustainable agriculture and plant diseases: an epidemiological perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* **363**, 741-759.
- Gilligan CA, van den Bosch F (2008) Epidemiological models for invasion and persistence of pathogens. *Annual Review of Phytopathology* **46**, 385-418.
- Giraud T (2004) Patterns of within population dispersal and mating of the fungus *Microbotryum violaceum* parasitising the plant *Silene latifolia*. *Heredity* **93**, 559-565.
- Giraud T, Enjalbert J, Fournier E, Delmotte F, Dutech C (2008) Population genetics of fungal diseases of plants. *Parasite-Journal De La Societe Francaise De Parasitologie* **15**, 449-454.
- Gonzalez M (1987) *Enfermedades del cultivo del banano*, Universidad de Costa Rica.
- Goyeau H, Halkett F, Zapater MF, Carlier J, Lannou C (2007) Clonality and host selection in the wheat pathogenic fungus *Puccinia triticina*. *Fungal Genetics and Biology* **44**, 474-483.
- Guerin F, Gladioux P, Le Cam B (2007) Origin and colonization history of newly virulent strains of the phytopathogenic fungus *Venturia inaequalis*. *Fungal Genetics and Biology* **44**, 284-292.
- Guillot G, Mortier F, Estoup A (2005) GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* **5**, 712-715.
- Hardy OJ, Vekemans X (1999) Isolation by distance in a continuous population: reconciliation between spatial autocorrelation analysis and population genetics models. *Heredity* **83**, 145-154.
- Hayden HL, Carlier J, Aitken EAB (2003) Population differentiation in the banana leaf spot pathogen *Mycosphaerella musicola*, examined at a global scale. *Plant Pathology* **52**, 713-719.
- Hayden HL, Carlier J, Aitken EAB (2005) The genetic structure of Australian populations of *Mycosphaerella musicola* suggests restricted gene flow at the continental scale. *Phytopathology* **95**, 489-498.
- Holt RD, Gomulkiewicz R, Barfield M (2003) The phenomology of niche evolution via quantitative traits in a 'black-hole' sink. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **270**, 215-224.
- Jones DR (2000) *Diseases of banana, abaca and enset*. CABI Publishing, Oxon.
- Keller SR, Taylor DR (2008) History, chance and adaptation during biological invasion: separating stochastic phenotypic evolution from response to selection. *Ecology Letters* **11**, 852-866.
- Klein EK, Lavigne C, Picault H, Renard M, Gouyon PH (2006) Pollen dispersal of oilseed rape: estimation of the dispersal function and effects of field dimension. *Journal of Applied Ecology* **43**, 141-151.
- Leblois R, Estoup A, Rousset F (2009) IBDSim: a computer program to simulate genotypic data under isolation by distance. *Molecular Ecology Resources* **9**, 107-109.
- Lenormand T (2002) Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution* **17**, 183-189.
- Lenormand T, Guillemaud T, Bourguet D, Raymond M (1998) Evaluating gene flow using selected markers: A case study. *Genetics* **149**, 1383-1392.

- Lind M, Dalman K, Stenlid J, Karlsson B, Olson A (2007) Identification of quantitative trait loci affecting virulence in the basidiomycete *Heterobasidion annosum* s.l. *Current Genetics* **52**, 35-44.
- Lumbsch HT, Buchanan PK, May TW, Mueller GM (2008) Phylogeography and biogeography of fungi. *Mycological Research* **112**, 423-424.
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution* **18**, 189-197.
- Manzo-Sanchez G, Zapater MF, Luna-Martinez F, *et al.* (2008) Construction of a genetic linkage map of the fungal pathogen of banana *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black leaf streak disease. *Current Genetics* **53**, 299-311.
- Marin DH, Romero RA, Guzman M, Sutton TB (2003) Black sigatoka: An increasing threat to banana cultivation. *Plant Disease* **87**, 208-222.
- McDonald BA, Linde C (2002) Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* **40**, 349-+.
- McKay JK, Latta RG (2002) Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in Ecology & Evolution* **17**, 285-291.
- Mourichon X, Fullerton RA (1990) Geographical distribution of the two species *Mycosphaerella musicola* Leach (*Cercospora musae*) and *M. fijiensis* Morelet (*C. fijiensis*), respectively agents of Sigatoka disease and Black Leaf Streak disease in bananas and plantains. *Fruits* **45**, 213-218.
- Neuenschwander S, Hospital F, Guillaume F, Goudet J (2008) quantiNemo: an individual-based program to simulate quantitative traits with explicit genetic architecture in a dynamic metapopulation. *Bioinformatics* **24**, 1552-1553.
- Pariaud B, Ravigne V, Halkett F, *et al.* (2009) Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. *Plant Pathology* **58**, 409-424.
- Pasche JS, Gudmestad NC (2008) Prevalence, competitive fitness and impact of the F129L mutation in *Alternaria solani* from the United States. *Crop Protection* **27**, 427-435.
- Raboin LM, Selvi A, Oliveira KM, *et al.* (2007) Evidence for the dispersal of a unique lineage from Asia to America and Africa in the sugarcane fungal pathogen *Ustilago scitaminea*. *Fungal Genetics and Biology* **44**, 64-76.
- Rees EE, Pond BA, Cullingham CI, *et al.* (2009) Landscape modelling spatial bottlenecks: implications for raccoon rabies disease spread. *Biology Letters* **5**, 387-390.
- Rivas GG, Zapater MF, Abadie C, Carlier J (2004) Founder effects and stochastic dispersal at the continental scale of the fungal pathogen of bananas *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology* **13**, 471-482.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* **145**, 1219-1228.
- Rousset F (2000) Genetic differentiation between individuals. *Journal of Evolutionary Biology* **13**, 58-62.
- Rousset F (2001) Inference from spatial population genetics. In: *Handbook of statistical genetics* (eds. Balding DJ, Bishop M, Cannings C), pp. 239-269. Wiley, Chichester.
- Schlotterer C (2003) Hitchhiking mapping - functional genomics from the population genetics perspective. *Trends in Genetics* **19**, 32-38.
- Slatkin M (1987) GENE FLOW AND THE GEOGRAPHIC STRUCTURE OF NATURAL-POPULATIONS. *Science* **236**, 787-792.
- Stinchcombe JR, Hoekstra HE (2008) Combining population genomics and quantitative genetics: finding the genes underlying ecologically important traits. *Heredity* **100**, 158-170.
- Storz JF (2005) Using genome scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Molecular Ecology* **14**, 671-688.
- Tobler WR (2007) Spatial aspects of epidemics- I: Pathogen dispersal and disease gradients. In: *The study of plant disease epidemics* (eds. Madden LV, Hughes G, Van den Bosch F), pp. 173-209. APS press, St Paul.
- van den Bosch F, Gilligan CA (2008) Models of fungicide resistance dynamics. *Annual Review of Phytopathology* **46**, 123-147.

- Vekemans X, Hardy OJ (2004) New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology* **13**, 921-935.
- Wright S (1943) Isolation by distance. *Genetics* **28**, 114-138.
- Zapater MF, Abadie C, Pignolet L, Carlier J, Mourichon X (2008a) Diagnosis of *Mycosphaerella* spp., responsible for *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas and plantains, through morphotaxonomic observations. *Fruits* **63**, 389-393.
- Zapater MF, Duchemin M, Dussart JF, *et al.* (2008b) Microsatellite markers for the fungal banana pathogens *Mycosphaerella fijiensis*, *Mycosphaerella musicola* and *Mycosphaerella eumusae*. *Molecular Ecology Resources* **8**, 1121-1125.
- Zapater MF, Rakotonantoandro A, Cohen S, Carlier J (2004) Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism markers for the fungal banana pathogen *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology Notes* **4**, 80-82.
- Zhan J, Linde CC, Jurgens T, *et al.* (2005) Variation for neutral markers is correlated with variation for quantitative traits in the plant pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Molecular Ecology* **14**, 2683-2693.
- Zhan J, McDonald BA (2004) The interaction among evolutionary forces in the pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetics and Biology* **41**, 590-599.

Annexe 1 : Liste détaillée des publications

Articles dans des revues internationales ou nationales avec comité de lecture répertoriées dans les bases de données internationales :

Pariaud B., Ravigné V., Halkett F., Goyeau H., Carlier J., Lannou C. 2009. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. *Plant Pathology* 58: 409-424.

Zapater M-F., Duchemin M., Dussart J-F., Coste D., Brottier P., and Carlier J. 2008. Microsatellite markers for the fungal banana pathogens *Mycosphaerella fijiensis*, *Mycosphaerella musicola* and *Mycosphaerella eumusae*. *Molecular Ecology Resources* 8 : 1121-1125.

Arzanlou M., Groenewald J.Z., Fullerton R.A., Abeln E.C.A., Carlier J., Zapater M.C., Buddenhagen I.W., Viljoen A., Crous P.W. 2008. Multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several novel species of *Mycosphaerella* and related anamorphs on banana. *Persoonia* 20: 19-37.

Manzo-Sanchez G., Zapater M.F., Luna-Martinez F., Conde-Ferraz L., Carlier J., James-Kay A., Simpson J. 2008. Construction of a genetic linkage map of the fungal pathogen of banana *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black leaf streak disease. *Current genetics* 53: 299-311.

Arzanlou M., Abeln E.C.A., Kema G.H.J., Waalwijk C., Carlier J., De Vries I., Guzman M., Crous P.W. 2007. Molecular diagnostics for the sigatoka disease complex of banana. *Phytopathology* 97: 1112-1118.

Dutech C., Enjalbert J., Fournier E., Delmotte F., Barrès B., Carlier J., Tharreau D., Giraud T. 2007. Challenges of microsatellite isolation in fungi. *Fungal genetics and biology* 44: 933-949.

Goyeau H., Halkett F., Zapater M.F., Carlier J., Lannou C. 2007. Clonality and host selection in the wheat pathogenic fungus *Puccinia triticina*. *Fungal genetics and biology* 44: 474-483.

Raboin L.M., Selvi A., Oliveira K.M., Paulet F., Calatayud C., Zapater M.F., Brottier P., Luzaran R., Garsmeur O., Carlier J., D'Hont A., 2006. Evidence for the dispersal of a unique lineage from Asia to America and Africa in the sugarcane fungal pathogen *Ustilago scitaminea*. *Fungal genetics and biology* 44 : 64-76.

Hayden H.L., Carlier J., Aitken E.A.B. 2005. The genetic structure of Australian populations of *Mycosphaerella musicola* suggests restricted gene flow at the continental scale. *Phytopathology* 95: 489-498.

Rivas G.G., Zapater M.F., Abadie C., Carlier J. 2004. Founder effects and stochastic dispersal at the continental scale of the fungal pathogen of bananas *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology* 13: 471-482.

Zapater M.F., Rakotonantoandro A., Cohen S., Carlier J. 2004. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism markers for the fungal banana pathogen *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology notes* 4: 80-82.

Hayden H.L., Carlier J., Aitken E.A.B. 2003. Genetic structure of *Mycosphaerella fijiensis* populations from Australia, Papua New Guinea and the Pacific Islands. *Plant pathology* 52: 703-712.

Hayden H.L., Carlier J., Aitken E.A.B. 2003. Population differentiation in the banana leaf spot pathogen *Mycosphaerella musicola*, examined at a global scale. *Plant pathology* 52: 713-719.

Carlier J., Zapater M.F., Lapeyre F., Jones D.R., Mourichon X. 2000. Septoria leaf spot of banana: A newly discovered disease caused by *Mycosphaerella eumusae* (anamorph *Septoria eumusae*) . *Phytopathology* 90 : 884-890.

Bardin M., Carlier J., Nicot P.C., 1999. Genetic differentiation in the French population of *Erysiphe cichoracearum*, a causal agent of powdery mildew of cucurbits. *Plant Pathology* 48: 531-540.

Carlier J., Lebrun M.H., Zapater M.F., Dubois C., Mourichon X. 1996. Genetic structure of the global population of banana black leaf streak fungus, *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology* 5: 499-510.

Carlier J., Mourichon X., Gonzalez De Léon D., Zapater M.F., Lebrun M.H., 1994. DNA Restriction Fragment Length Polymorphisms in *Mycosphaerella* species that cause banana Leaf Spot diseases. *Phytopathology* 84: 751-756.

Articles dans des revues sans comité de lecture :

Giraud T., Carlier J. 2009. Emerfundis : impact des changements globaux sur l'émergence de nouvelles maladies des plantes. 2009. *Biofutur* 297- p. 39.

Abadie C., Zapater M-F., Pignolet L., Carlier J., Mourichon X. 2008. Artificial inoculation on plants and banana leaf pieces with *Mycosphaerella* spp., responsible for Sigatoka leaf spot diseases. *Fruits* 63: 319-323.

Zapater M-F., Abadie C., Pignolet L., Carlier J., Mourichon X. 2008. Diagnosis of *Mycosphaerella* spp., responsible for *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas and plantains, through morphotaxonomic observations. *Fruits* 63: 389-393.

Raboin L.M., Costet L., Carlier J., Pauquet J., D'Hont A., 2007. Le charbon de la canne à sucre : diversité du champignon et génétique de la résistance. In: *Le Cirad à la Réunion en 2006*. Saint-Denis, Réunion, CIRAD, p. 18-19.

Abadie C., Pignolet L., Elhadrami A., Habas R., Zapater M.F., Carlier J. 2005. Inoculation avec *Mycosphaerella* sp., agent de cercosporioses, de fragments de feuilles de bananiers maintenus en survie. *Cahier des Techniques de l'INRA*, (n.sp.): 131-134.

Carlier, J. 2004. Population genetic structure and dispersal of *Mycosphaerella fijiensis*. *Infomusa* 13: 17-20.

Communications avec actes dans un congrès international :

Abadie, C., Chilin-Charles, Y., Huat, J., Salmon, F., Pignolet, L., Carlier, J., Lescot, T., Côte, F. and Jenny, C. 2009. New approaches to select cultivars of banana with durable resistance to *Mycosphaerella* leaf spot diseases. *Acta Hort.* (ISHS) 828: 171-178.

de Lapeyre de Bellaire, L., Essoh Ngando, J., Abadie, C., Chabrier, C., Blanco, R., Lescot, T., Carlier, J. and Côte, F. 2009. Is chemical control of mycosphaerella foliar diseases of banana sustainable? *Acta Hort. (ISHS)* 828: 161-170.

Abadie C., A. El Hadrami, E. Fouré & J. Carlier. 2003. Efficiency and durability of partial resistance components of bananas against black leaf streak disease. Pp. 161-168 in *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: Present status and outlook. (L. Jacome, P. Lepoivre, R. Marin, R. Ortiz, R. A. Romero and J. V. Escalant, eds). INIBAP, Montpellier.

Carlier J., H. Hayden & G. Rivas-Platero. 2003. Genetic differentiation in the *Mycosphaerella* leaf spot pathogens of bananas. Pp.123-129 in *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: Present status and outlook. (L. Jacome, P. Lepoivre, R. Marin, R. Ortiz, R. A. Romero and J. V. Escalant, eds.). INIBAP, Montpellier.

Crous P.W., Groenewald J.Z., Aptroot A., Braun U., Mourichon X., Carlier J. 2003. Integrating morphological and molecular data sets on *Mycosphaerella*, with specific reference to species occurring on *Musa*. Pp. 43-57 in *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: Present status and outlook. (L. Jacome, P. Lepoivre, R. Marin, R. Ortiz, R. A. Romero and J. V. Escalant, eds.). INIBAP, Montpellier.

Ouvrages scientifiques (ou chapitres de ces ouvrages)

Carlier J., Tharreau D., 2003. Etude de la structure des populations de *Mycosphaerella fijiensis* (maladie des raies noires du bananier) et de *Magnaporthe grisea* (pyriculariose du riz) en relation avec la gestion des résistances à ces maladies. In : *Phytopathologie : bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte*. Bruxelles, Belgique, De Boeck Université, p. 138-141.

Carlier J., De Waele D., Escalant J.V., Vézina A., Picq C., 2003. Global evaluation of *Musa* germplasm for resistance to Fusarium wilt, *Mycosphaerella* leaf spot diseases and nematodes. *INIBAP Technical Guidelines*. Rome, Italie, IPGRI, 57 p.

Carlier J., Mourichon X., Jones D.R., 2000. Black leaf streak. The causal agent. In : *Diseases of banana, abaca and enset*. Wallingford, Royaume-Uni, CABI Publishing, p.48-56.

Carlier J., Mourichon X., Jones D.R., 2000. Sigatoka-like leaf spots : Septoria leaf spot. In : *Diseases of banana, abaca and enset*. Wallingford, France, CABI Publishing, p.93-96.

El Hadrami A., Abadie C., Carlier J., 2003. Evaluation de la résistance partielle du bananier à la maladie des raies noires. In : *Phytopathologie : bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte*. Bruxelles, Belgique, De Boeck Université, p. 279.

Mourichon X., Lepoivre P., Carlier J., 2000. Black leaf streak. Host-pathogen interactions. In: *Diseases of banana, abaca and enset*. Wallingford, France, CABI Publishing, p.67-72.

Brygoo Y., Caffier V., Carlier J., Fabre J.V., Fernandez D., Giraud T., Mourichon X., Neema C., Notteghem J.L., Pope C., Tharreau D., Lebrun M.C. 1998. Reproduction and population structure in phytopathogenic fungi. In : Bridge P. (ed.), Couteaudier Y. (ed.), Clarkson J. (ed.). *Molecular variability of fungal pathogens*. Wallingford : CAB International, p.133-148.

Annexe 2: Curriculum vitae

Jean Carlier

Nationalité :	Française
Date de naissance :	29/10/1965
Situation familiale :	Marié, 3 enfants
Adresse professionnelle :	CIRAD, Département BIOS, UMR BGPI (Biologie et génétique des interactions plantes-parasites) - TA A 54/K - 34398 Montpellier Cedex 5 FRANCE Tél: 33 (0) 4 99 62 48 09, Fax: 33 (0) 4 99 62 48 12 e-mail: jean.carlier@cirad.fr
Profession :	Chercheur
Fonction :	Responsable de l'équipe BECφ 'Biologie évolutive des champignons phytopathogènes'
Compétences scientifiques:	Phytopathologie, génétique des populations
Thématiques :	<ul style="list-style-type: none">- Génétique des populations et adaptation de champignons phytopathogènes- Biologie et évolution des <i>Mycosphaerella</i> spp parasites du bananier
Formation :	Doctorat en Science, spécialité phytopathologie Université Paris-Sud / Orsay / France (1994) DEA de Phytopathologie Université Paris-Sud / Orsay / France (1990) Maîtrise de biologie végétale Université Paris-Sud / Orsay / France (1989) Licence de biochimie, biologie moléculaire et génétique Université Paris-Sud / Orsay / France (1988)
Compétences linguistiques :	Langue maternelle : Français Langue de travail : Anglais
Expérience professionnelle :	Au CIRAD depuis 1990